Anno XI - Nuova Serie N. 3

BOLLETTINO
DELLA R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

Un marciume dei limoni dovuto a *Pleospora herbarum* (Pers.) Rabenh.

Nel Gennaio scorso il Direttore di questa R. Stazione mi portò dalla Sicilia, perchè li esaminassi, un certo numero di limoni che presentavano alterazioni varie; da uno di questi isolai su agar carote un *Macrosporium* che parve potersi riferire a *M. communis* Rabh., forma conidica della *Pleospora herbarum* (Pers). Rabenh. Quando poi ottenni la forma ascofora, essa si dimostrò in tutto analoga alla *Pleospora* citata, confermando così la supposizione fatta riguardo alla posizione sistematica del fungo isolato.

Questo ascomicete è abbastanza comune sulle foglie degli agrumi, oltre che su diversi organi di numerosissime altre piante, ma non mi risulta che esso sia mai stato osservato sui frutti del genere *Citrus*. Ho consultato in proposito uno dei più completi lavori sulle malattie degli agrumi dovuto al Fawcett [8] nel quale è citata una *Pleospora* come agente di un marciume dei limoni che, a differenza di quello dovuto all'*Alternaria Citri*, si presenta alquanto sodo e resistente alla pressione delle dita. La *Pleospora* in parola attaccherebbe il frutto più facilmente e con maggiore rapidità della *Alternaria*, anche se il frutto stesso è ben turgido e appena raccolto dall'albero. In base a questa differenza di comportamento il Fawcett ritiene che si tratti di una specie

non rientrante nel ciclo evolutivo dell'*Alternaria Citri*, ma non è mai riuscito ad ottenere la sua forma conidica sui comuni substrati, mentre la forma ascofora si svilupperebbe con grande facilità su agar di patate glucosato.

Vedremo in seguito come le mie osservazioni sul fungo isolato dai limoni della Sicilia mi conducano a ritenere improbabile l'ipotesi della sua identità con la specie del Fawcett, principalmente per l'estrema facilità con la quale si sviluppa la forma conidica in quasi tutti i terreni di cultura sperimentati.

Nel 1878 il Cattaneo trovò sull'arancio una *Pleospora* che descrisse come specie nuova chiamandola *Pl. Hesperidearum* Catt., ma, esaminando la descrizione fattane dal Cattaneo stesso [5] e la tavola che vi si riferisce, credo poter affermare che nemmeno questa corrisponde alla *Pleospora* da me isolata, in quanto, se è vero che la forma conidica, che egli riferisce a *Sporodesmium pyriformis* Corda, ma che il Penzig [14] giustamente riporta al genere *Macrosporium*, rassomiglia, assai al *M. communis*, non è men vero che la forma ascofora è assai diversa dalla *Pl. herbarum*.

Bisogna notare che la diagnosi del Cattaneo è assai incompleta, poichè in essa manca ogni accenno alla presenza o meno di parafisi e al numero dei setti trasversali delle ascospore e che, perciò, l'unica guida su questi due punti ci è data dalla tavola annessa dove, tra l'altro, è disegnato un peritecio in sezione contenente aschi maturi — senza parafisi, — due aschi con ascospore e ascospore libere, germinanti e non germinanti. Anche prescindendo dal fatto delle parafisi, che dovevano essere presenti essendo questo un carattere del genere, rimane sempre che le ascospore sono tutte raffigurate come triseptate, mente la *Pl. herbarum* le presenta eptaseptate.

Ho poi consultati diversi altri testi per vedere se mi riusciva di trovare qualche accenno a *Pleospore* o a *Macrosporium* capaci di determinare un marciume de-

gli agrumi, ma sempre con risultati negativi e quindi ritengo che, oltre alle due *Pleospore* sopra citate, nessuna specie di questo genere sia stata trovata sui *Citrus*.

L'alterazione riscontrabile sui limoni colpiti dal *Macrosporium* (Tav. III, fig. 1) è in tutto simile a quella prodotta dall'*Alternaria* e riesce quindi quasi impossibile distinguere se essa sia dovuta all'uno o all'altro di questi funghi col semplice esame della macchia che appare alla superficie del frutto. Infatti, quando feci nuovi isolamenti da tessuti di limoni che il Direttore mi portò ultimamente dalla Sicilia e che presentavano macchie apparentemente dovute al fungo in esame, nelle culture ebbi costantemente lo sviluppo di una *Alternaria*.

Mi è in tal modo venuto a mancare il materiale naturalmente infetto per poter osservare tutti gli stadii del marciume e seguire il suo graduale sviluppo, ma, servendomi delle inoculazioni artificiali, che mi hanno sempre dato risultato positivo, ho potuto fare osservazioni che credo sufficienti a stabilire il decorso della malattia.

In generale, dopo otto o dieci giorni dalla inoculazione, la zona immediatamente prossima alla ferita attraverso alla quale si è introdotto un frammento di micelio, comincia a presentarsi leggermente infossata ed imbrunita, con le ghiandole oleifere che spiccano chiaramente sul fondo meno scuro della macchia. Se la temperatura ambiente è sufficientemente elevata, la macchia si allarga di giorno in giorno inscurendosi sempre più e quando ha raggiunto il diametro di due o tre centimetri si può distinguere in essa una parte centrale bruno scura contornata da un alone più chiaro, rappresentato dai tessuti recentemente invasi. Il colore bruno scuro della parte centrale assume col tempo una tinta quasi nera e spesso in quel punto il frutto si ricopre di un feltro prima grigio, poi verdastro scuro, che al microscopio si mostra formato dalle fruttificazioni del parassita.

L'attacco è più rapido quando l'inoculazione sia stata fatta nella parte apicale ed infatti, osservando le figure

2 e 3 della tavola III dove sono riprodotte le fotografie di due limoni inoculati contemporaneamente e fotografati un mese dopo l'avvenuta inoculazione, si vede che il frutto che fu inoculato presso l'apice è più alterato e che in esso la macchia bruna è più estesa, mentre nell'altro l'infezione ha progredito molto più lentamente e già da qualche tempo rimaneva stazionaria.

Evidentemente però il fungo continuava ad estendersi nei tessuti anche se non se ne aveva alcun indizio esteriore, perchè improvvisamente, quindici giorni dopo la fotografia riprodotta, si manifestò un illividimento di tutta la zona compresa fra la macchia bruna e l'apice. In tale zona il colore normale era più pallido come se il frutto avesse in quel punto ricevuta una forte contusione, ma alla pressione delle dita si mostrava sodo come la parte non alterata. In seguito, l'infezione progredì tanto rapidamente che in cinque giorni tutta la parte apicale era passata dal giallo pallido al bruno, non solo, ma alla superficie della macchia, che si presentava leggermente infossata, comparve il caratteristico feltro grigio verdastro.

Questo fatto del ritardo delle manifestazioni esterne della malattia, le quali fanno poi la comparsa improvvisa quando l'alterazione interna ha già guadagnato una buona parte dei tessuti, fu ancora più evidente in un altro limone che, sebbene inoculato contemporaneamente ai due primi, rimase apparentemente sano fino all'epoca in cui furono fotografati gli altri, tanto che credetti che l'inoculazione non fosse riuscita.

In questo caso però, l'imbrunimento non fu preceduto da alcun illividimento della buccia, ma in un primo tempo si andò formando, attorno al punto di inoculazione, la caratteristica macchia la quale si estese poi rapidamente verso l'apice che raggiunse in 15 giorni. Da questo momento la velocità di sviluppo si accrebbe ancora ed in altri cinque giorni più di due terzi dell'intera superficie del frutto era alterata.

Sezionando un frutto presentante il marciume dovuto a *Macrosporium* si vede che, in corrispondenza dell'alterazione esterna, i tessuti della buccia sono imbruniti,

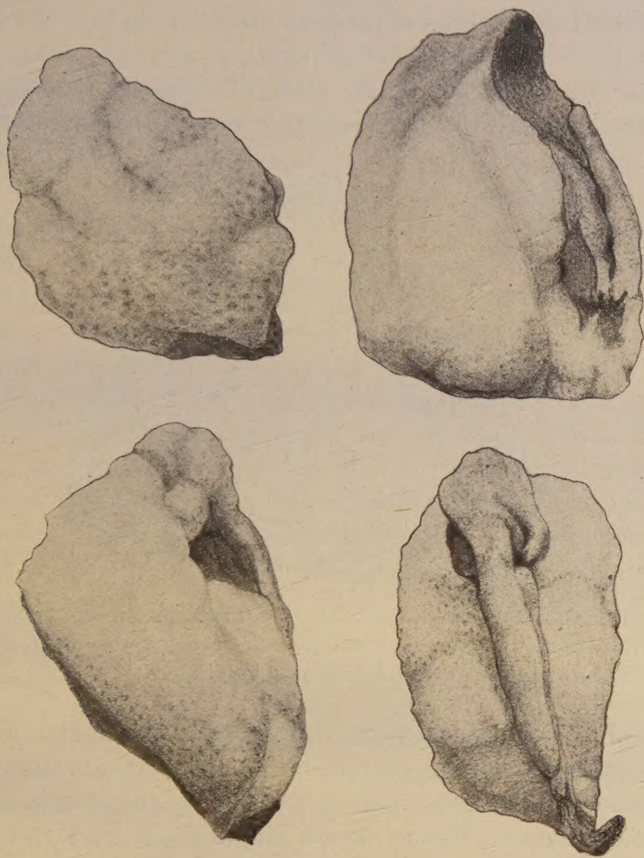


Fig. 1. — In alto a sinistra aspetto di un ovulo abortito. Le rimanenti figure rappresentano un altro ovulo in tre posizioni diverse.

e che l'imbrunimento del mesocarpo è più esteso che la macchia superficiale. Quando l'infezione ha raggiunto l'apice del frutto, in poco tempo determina l'alterazione completa del tessuto spugnoso del mesocarpo, che in

questa parte è più abbondante e guadagna rapidamente quelli che si trovano lungo l'asse centrale i quali, allorchè il marciume è abbastanza progredito, risultano fortemente invasi dal micelio, imbruniti ed alterati profondamente in modo che si possono staccare facilmente dalla parte interna e succosa degli spicchi. Aprendo un limone ammalato in questo stadio dell'infezione si possono allora mettere allo scoperto le placente, lungo il margine

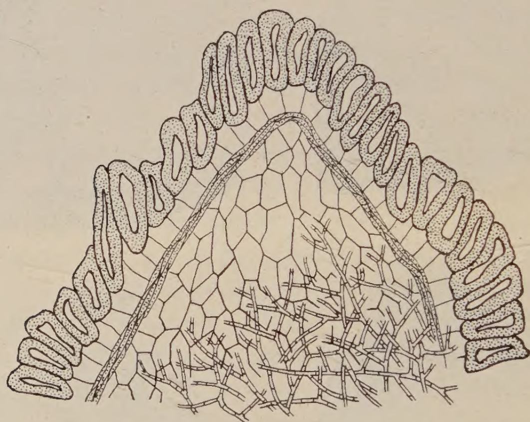


Fig. 2. — Sezione di ovulo abortito mostrante il tegumento più esterno (primina) fortemente sclerificato e il micelio del parassita che ha in parte distrutto l'albume.

interno delle quali si notano, oltre ai semi normalmente sviluppati, numerosi corpiccioli della grossezza di mezzo millimetro ed anche meno, disposti in file verticali secondo l'asse del frutto; questa disposizione, la loro forma e finalmente la loro costituzione anatomica, ci permisero di riconoscerli per ovuli abortiti (Fig. 1).

Nel limone dal quale feci il mio primo isolamento tali ovuli si presentavano ricoperti dal micelio del parassita che era poi penetrato nel loro interno distruggendo in gran parte il tessuto dell'albume al quale si era sostituito sotto forma di un fitto groviglio di ife (Fig. 2). Sebbene nel frutto suddetto i semi completa-

mente sviluppati non si mostrassero attaccati dal fungo, ho potuto constatare, nelle inoculazioni artificiali, che la cosa si verifica comunemente, ma che la penetrazione del micelio in questi avviene più tardi. In alcuni semi da me osservati, provenienti da un frutto di quelli che erano stati inoculati per primi e quindi completamente alterato, con la buccia imbrunita che aveva assunta la consistenza legnosa che caratterizza l'ultimo stadio del marciume dovuto al *Macrosporium*, e con i tessuti interni assai disgregati e ricoperti da un feltro di micelio grigio sporgente nelle cavità che si erano andate formando in seguito alla scomparsa di tutta la parte succosa degli spicchi, ho trovato i tegumenti esterni infarciti di micelio fungino, che però si arrestava alla secondina, della quale determinava il facile distacco dai cotiledoni, senza invadere i cotiledoni stessi. Anche l'embrione era imbrunito, ma non ho potuto trovare nel suo interno nessuna traccia di micelio. Considerando però la facilità con la quale il fungo è capace di aggredire tessuti assai più resistenti di quello che non lo siano i cotiledoni e l'embrione, è molto probabile che anch'essi vengano, più tardi, invasi e forse distrutti.

*
* *

Il micelio che si trova nei tessuti mesocarpici è di forma e di dimensioni assai variabili, ialino, settato irregolarmente e spesso guttulato, a decorso intercellulare ed intracellulare; esso penetra nelle cellule preferibilmente attraverso le punteggiature delle loro pareti (Fig. 3) le quali, in seguito, vengono in parte distrutte. Anche lo epicarpo è invaso dal fungo, sebbene in molto minor proporzione, ma in questo tessuto l'effetto dell'infezione consiste principalmente nello svuotamento e raggrinzimento delle cellule.

Il micelio che costituisce il feltro grigio verdastro che vedemmo formarsi alla superficie delle macchie è gene-

ralmente più sottile, di diametro più uniforme, di colore bruno olivaceo e raramente guttulato. Da queste ife superficiali partono i conidiofori, anch'essi di colore bruno

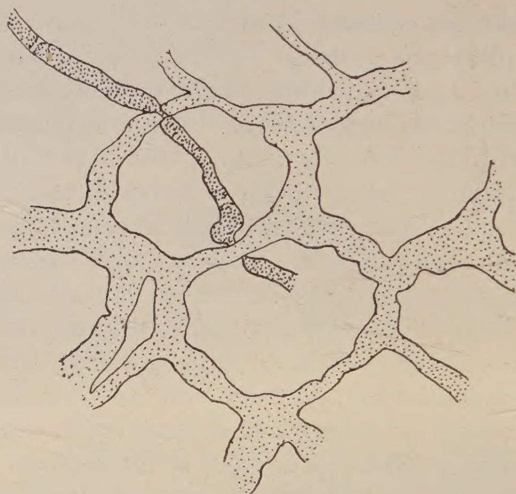


Fig. 3. — Sezione di tessuto mesocarpico di un frutto infetto mostrante il decorso intercellulare del micelio di *Macrosporium*.

olivaceo, brevi, bi o trisettati (raramente il numero dei setti sorpassa i tre), generalmente non ramificati e un poco più scuri all'apice dove si presentano leggermente rigonfiati e con parete più spessa (Fig. 4). Quando si stacca il conidio, che è sempre unico e terminale (1), il

---

(1) Il Brinkman in una sua recente pubblicazione [3] espone molto chiaramente i principali caratteri del genere *Macrosporium*. Nel lavoro citato si deve però rilevare una inesattezza nei caratteri differenziali fra i generi *Alternaria* e *Macrosporium* in quanto egli dice « Van Alternaria is tot heden nog geen ascusvorm bekend », mentre sono ormai provati [11-6] i rapporti metagenetici fra l'*Alternaria tenuis* Fuck. e la *Pleospora infectoria* Fuck. (= *Pleospora Alternariae* Gib. e Griff.). È però vero che in cultura si ottenne solo il passaggio dalle ascospore ai conidi perchè questi ultimi non diedero mai periteci maturi. Brefeld citato nel lavoro di Cavara e

conidioforo emette frequentemente un tubetto ialino nel punto di distacco. Il fenomeno è stato notato anche dal Penzig il quale in proposito dice ([14], pag. 414) : « Talvolta ho osservato, come pure notò il professore Gibelli, che, dopo la caduta delle spore, le ife procacciano dall'apice un filamento più sottile, diafano, per una specie di proliferazione; ma non mi fu mai dato di seguire l'ulteriore sviluppo di tali ife secondarie ». Anche il Gibelli non si pronuncia in merito allo sviluppo successivo del filamento emesso ([11], pag. 80). Su liquido di Dox agarizzato e su agar di carote ho potuto invece osservare, sebbene assai raramente, che tale tubetto si allunga per un certo tratto settandosi due o tre volte e quindi rigonfia l'estremità che imbrunisce leggermente, mentre la parete diviene in quel punto sensibilmente più grossa. Così trasformato assume l'aspetto di un conidioforo e come tale si comporta sviluppando un conidio apicale in tutto identico ai conidii normali (Fig. 5).

Le fruttificazioni conidiche, che si trovano assai abbondanti sul frutto, si presentano di colore bruno olivaceo più o meno scuro, con episporio fortemente zigrinato ed assai variabili nella forma e nel numero e disposizione dei setti. Notevoli oscillazioni si notano pure nella loro grandezza ed infatti ce ne sono alcune che misurano appena 10×15 μ ed altre di dimensioni notevolmente più grandi potendo arrivare fino a 25×38 μ, ma in generale esse sono comprese fra i 15 e i 18 μ di larghezza e i 21-24 μ di lunghezza.

Data la rapidità con la quale avviene la germinazione di queste spore (in acqua distillata si compie in 20-30 minuti) ho potuto seguire al microscopio l'emissione dei

---

Mollica [6] ha ottenuto conidi di *Alternaria* anche dalle ascospore di *Pleospora vulgaris* Niessl. (= *Pleospora infectoria* Fuck.).

Peglion [13] ha potuto seguire lo sviluppo di periteci di *Pleospora Alternariae* su semi di medica e trifoglio, posti in condizioni speciali, sui quali si era sviluppata l'*Alternaria tenuis*.

tubetti germinativi. Il filamento ialino che esce in seguito alla rottura dell'episporio è sottile, di calibro uni-

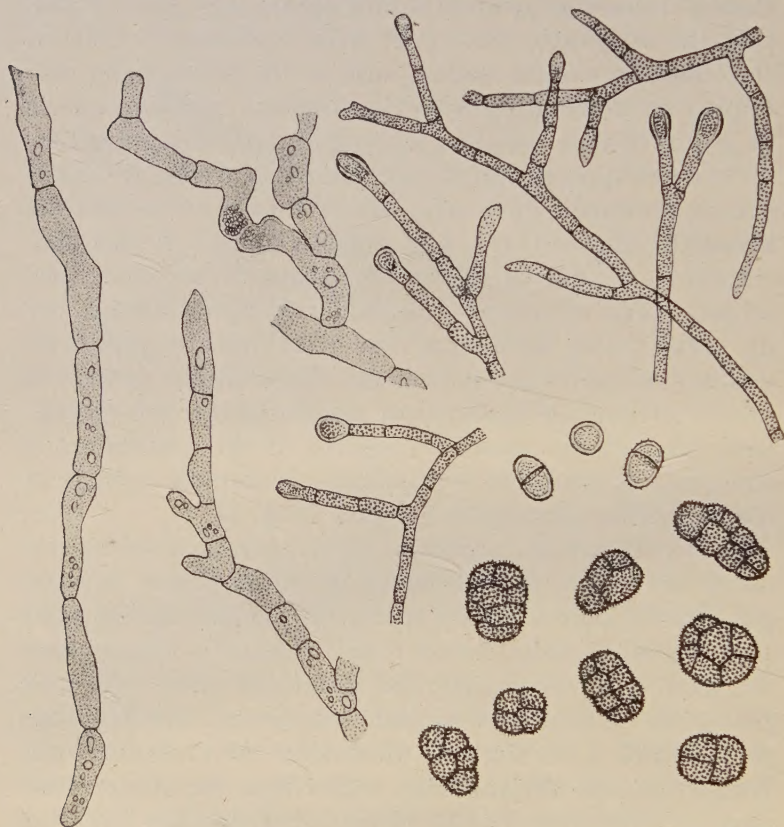


Fig. 4. — Micelio e fruttificazioni del parassita nei frutti.
I filamenti micelici più grossi, più chiari e guttulati si trovano nell'interno dei tessuti mentre gli altri più uniformi e più scuri formano il feltro alla superficie della macchia; questi ultimi portano numerosi conidiofori. I conidi sono raffigurati in diversi stadi di sviluppo.

forme e si mantiene non settato fino a che non ha raggiunta una notevole lunghezza; il numero dei filamenti emessi da ogni spora è comunemente di due o tre, ma se ne possono sviluppare fino a cinque; raramente se ne

forma uno solo. Ho notato pure che germinano anche le spore che, a giudicare dall'aspetto, sembrerebbero ancora in via di sviluppo perchè piccole, con pochi setti ed episporio sottile, poco colorato e non ancora evidentemente zigrinato; anzi, queste sono le prime a germinare, forse per la minor resistenza opposta dalla parete alla fuoriuscita del tubo germinativo. Dopo sei ore i tubetti si sono allungati notevolmente, la septazione è abbastanza evidente, ma solo qualche ora più tardi si cominciano a notare le prime ramificazioni (Figg. 6 e 7).

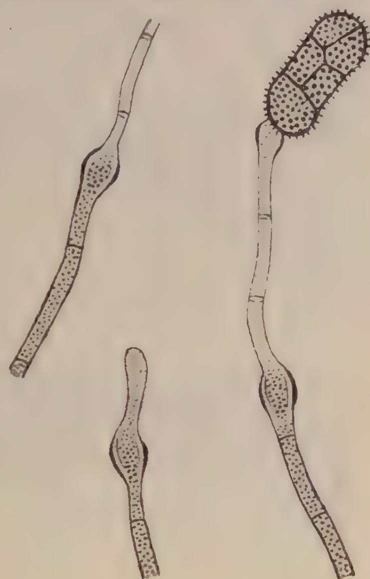


Fig. 5. — Diversi stadi della proliferazione apicale di un conidioforo su liquido di Dox agarizzato.

Procedendo nello sviluppo, il micelio più vecchio, cioè quello più prossimo alla spora che l'ha generato, si ingrossa assai e può anche assumere aspetto toruloide, con setti brevi e rigonfiati.

Un altro fenomeno, che si verifica quasi regolarmente ogni volta che due filamenti micelici vengono a trovarsi alquanto ravvicinati, è quello dell'anastomosi, ricordata anche da Gibelli e Griffini (op. cit.).

*
* *

Tutti i tentativi e le ricerche fatte allo scopo di trovare la forma ascofora sui frutti ammalati sono sempre riusciti inutili, ma non è da escludere che essa vi si sviluppi più tardi, tanto più che le mie osservazioni sono

state rivolte solo sui limoni inoculati artificialmente nei quali il fungo non vive che da qualche mese.

Nei tubi con agar di carote sul quale isolai il *Macrosporium*, notai, dopo qualche tempo, accenni a formazioni periteciali che però non arrivarono mai a differen-



Fig. 6. — Germinazione dei conidi in acqua (8 ore).

ziare aschi, cosa che mi indusse a trapiantare il fungo su altri terreni che avevo a disposizione per cercare di ottenere periteci maturi.

Ne ottenni infatti su pezzi di carota dove maturarono in poco più di un mese e ciò mi permise di determinare con sicurezza che si trattava di *Pleospora herbarum* (Pers.) Rabenh. Quando poi mi fu dato di osservare questa forma ascofora su altri terreni, vidi che essa si manteneva notevolmente costante nei caratteri principali e quindi ritengo di poterla descrivere quale mi apparve per la prima volta, limitandomi a notare le eventuali

differenze riscontrate sui diversi substrati nei quali giunse a maturazione.

Su pezzi di carota, dopo un paio di settimane, si cominciano a notare fitti grovigli di ife che preludiano la comparsa dei periteci, i quali, giunti a maturità, si presen-

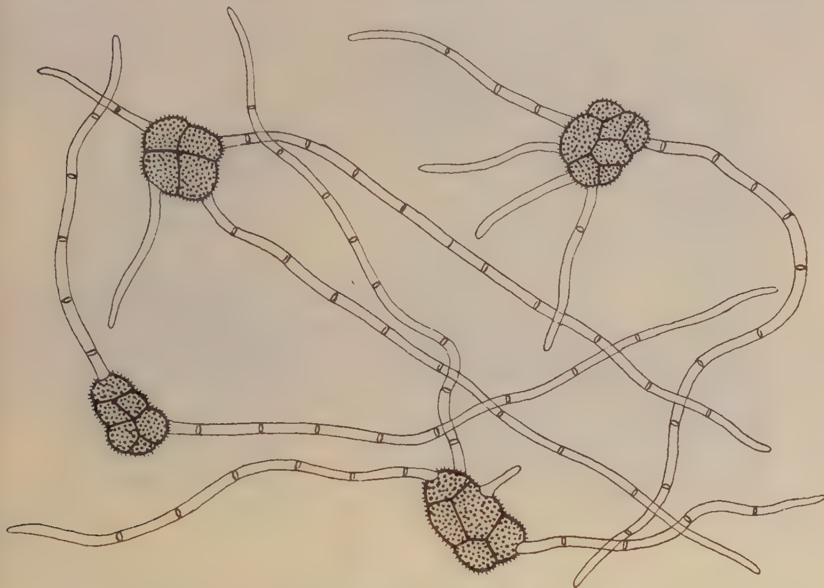


Fig. 7. — Germinazione dei conidi in acqua (6 ore)

tano globosi o piriformi, neri, membranacei (Tav. III, 4) di dimensioni comprese fra 290-330 μ di lunghezza e 200-250 μ di larghezza, generalmente sparsi (in alcuni substrati si possono trovare anche aggregati). Queste fruttificazioni periteciali sono generalmente solo in parte affondate nel terreno di cultura, sebbene in alcuni, ad esempio nel substrato n. 5, se ne formino di perfettamente mature anche a notevole profondità.

Nell'interno dei periteci sono contenuti aschi parafisati, a parete ialina, grossa e rifrangente, contenenti otto spore disposte grossolanamente su due file (Figg. 8, 9, 10 e 11), e misuranti, se ben maturi, $155\text{-}165 \times 23\text{-}26$ μ.

Le parafisi sono ben visibili, filiformi, articolate e di lunghezza circa uguale a quella degli aschi. Le ascospore sono muriformi, con sette setti trasversali, tre dei quali più evidenti, di colore giallo oliva, rivestite in gioventù da un involucro mucoso e di dimensioni assai costanti per ogni substrato, ma variabili da terreno a terreno; in-



Fig. 8. — Sezione di un peritecio maturato su pezzi di carota. × 200.



Fig. 9. — Asco di *Pl. herbarum*.

fatti le misurazioni mi hanno dato su pezzi di carota $29\text{-}30 \times 11\text{-}12\ \mu$, su liquido di Dox agarizzato $32\text{-}33 \times 12\text{-}13\ \mu$ e sul substrato n. 5, $32\text{-}35 \times 14\text{-}15\ \mu$. In questo ultimo substrato ho osservato lo stadio finale delle fruttificazioni ascofore quando cioè i periteci divengono nettamente ostiolati e lasciano in libertà le ascospore non più racchiuse negli aschi, delle cui pareti non si notano più nemmeno traccie.

*
* *

Allo scopo di osservare eventuali differenze di comportamento, ho seguito lo sviluppo del fungo in cultura sui 17 differenti substrati sotto elencati.

Terreni solidi.

1.° Decotto di carote agarizzato (acidità naturale).

2.° Brodo di carne di cavallo agarizzato (acidità naturale).

3.° Asparagina (0,5%) e glucosio (2%) agarizzati.

4°. Soluzione di Dunham agarizzata.

Peptone	gr.	1,00
Cloruro sodico	»	0,50
Acqua	»	100,00
Agar-agar	1,5%	

5.° Soluzione di:

Fosfato ammonico	gr.	0,20
Cloruro potassico	»	0,05
Solfato di magnesio . . .	»	0,07
Ossido di calcio	»	0,005
Acqua	»	500,00
Agar-agar	1,5%	

6.° Soluzione all'1% di asparagina agarizzata.

7.° Liquido di Dox agarizzato.

Solfato di magnesio . . .	gr.	0,50
Fosfato acido di potassio . .	»	1,00
Cloruro potassico	»	0,50
Solfato ferroso	»	0,01
Acqua	»	1000,00
Agar-agar	1,5%	

8°. Decotto di patate glucosato e agarizzato (acidità naturale).

9.ª Idem (reso alcalino per aggiunta di carbonato sodico).

10.° Patate in pezzi.

11.° Carote in pezzi.

Terreni liquidi.

12.° Soluzione di Asparagina (0,5%) e Glucosio (2%).

13.° Soluzione all'1% di Asparagina.

14.° Soluzione di Dunham.

15.° Brodo di carne di cavallo (acidità naturale).

16.° Soluzione di:

Fosfato ammonico	gr.	0,20
Cloruro potassico	»	0,05
Solfato di magnesio . . .	»	0,07
Ossido di calcio	»	0,005
Acqua	»	500,—

17.° Liquido di Dox.

Tutti questi substrati furono posti in bevute e il trapianto fu fatto contemporaneamente da uno stesso tubo, scelto fra quelli nei quali ottenni il primo isolamento; solo il substrato n. 9 non fu inoculato che più tardi quando cioè, per ragioni che saranno dette più avanti, ritenni utile aggiungerlo a quelli già sperimentati.

Ho seguito giorno per giorno lo sviluppo delle colonie derivanti dal micelio inoculato e riassumo qui quanto ho potuto notare.

Dopo 1 o 2 giorni si notarono le prime traccie di accrescimento fungino in tutti i substrati tanto liquidi che solidi, ma, mentre le colonie dei terreni solidi si allargarono in seguito di 5-6 mm. ogni 24 ore, quelle dei liquidi accrebbero con grande lentezza, quasi insensibilmente e ciò specialmente finchè il fiocco micelico non raggiunse la superficie; anche oggi però, alla distanza di quasi quattro mesi dal trapianto, in alcuni substrati lo sviluppo è scarsissimo e quasi nullo.

Sui terreni solidi le colonie si presentarono di forma quasi circolare, a sviluppo regolare, generalmente più superficiali che aeree e rimasero di colore bianco opaco o grigio chiaro fino al sesto giorno ma poi cominciarono ad apparire delle zone bruno verdastre più o meno accentuate in parecchi substrati, e fra il sesto e il nono giorno tutte le colonie, escluse quelle della soluzione



Fig. 10. — Aschi maturi di *Pleospora herbarum*.

con fosfato ammonico agarizzata, che mantengono ancora il loro colore bianco opaco, presentavano la zona centrale iscurita. Questi imbrunimenti indicano, generalmente, i punti in cui il micelio fruttifica ed il colore stesso è dovuto in gran parte alla formazione dei conidiofori e alla produzione delle spore, sebbene vi concorra anche il colore olivaceo assunto dal micelio nell'invecchiamento.

Riporto sotto le osservazioni relative ad ogni substrato, numerando i terreni secondo l'ordine nel quale sono stati prima elencati.

Terreni solidi.

Sub. N. 1. — Sviluppo discreto in superficie con formazione di un denso feltro bianco, aereo, solo nella parte centrale. Al settimo giorno comincia l'imbrunimento a contatto del terreno di cultura. Dopo un mese la colonia è di colore uniformemente bruno verdastro e la colorazione si approfondisce nel substrato. Grandissima quantità di conidi ed anche numerosi periteci, spesso raggruppati, quasi superficiali ed immaturi.

Sub. N. 2. — Sviluppo rapido, ma con formazione di feltro bianco solo nella parte centrale della colonia. Il colore verdastro comparve dopo sette giorni, ma non ha mai occupato tutta la superficie della colonia, nè si è approfondito nel terreno di cultura. La forma conidica è presente ed anche in grande quantità; non ho potuto trovare nemmeno l'inizio della formazione dei periteci.

Sub. N. 3. — Accrescimento rapidissimo con imbrunimento precoce (quarto giorno). Sviluppo quasi unicamente superficiale e poco denso. I conidii si formano presto ed in quantità grandissima. Dopo 10 giorni cominciano a formarsi i periteci, anche a grande profondità nel substrato, isolati, piriformi e non ancora maturi.

Sub. N. 4. — Le colonie si sviluppano rapidamente, ma solo in superficie senza nemmeno affondare nel substrato. L'imbrunimento comincia al sesto giorno, ma il colore della colonia non diventa mai molto carico. Fruttificazioni conidiche abbondanti; quelle periteciali invece cominciano appena a formarsi.

Sub. N. 5. — Allargamento rapido delle colonie formate da micelio che non produce feltri cotonosi, ma che affonda assai nel terreno di cultura e raggiunge presto il fondo della bevuta. Manca la colorazione bruno verdastra di tutti gli altri substrati solidi. Rarissimi conidi; numerosi invece i periteci, ostiolati, dai quali fuoriescono le ascospore perfettamente mature.

Sub. N. 6. — Come sul substrato N. 3 la colorazione bruna comincia assai presto, ma non raggiunge mai intensità notevole. Il micelio rimane rado pur affondandosi molto nel substrato. Abbastanza numerosi i conidi; anche i periteci sono presenti sebbene ancora assai lontani dalla maturità.

Sub. N. 7. — L'allargamento delle colonie è rapido, ma il micelio non si eleva mai sul substrato per formare feltri cotonosi presentandosi invece molto rado e superficiale. Dopo quasi due mesi non si ha ancora che una piccola area centrale leggermente imbrunita nella quale però i conidi si sono sviluppati in notevole quantità. I periteci sono piantati anche a notevole profondità nel terreno, isolati e perfettamente maturi.

Sub. N. 8. — Sviluppo rapidissimo e fioccoso. L'imbrunimento delle ife a contatto col substrato avviene prestissimo. 10 giorni dopo il trapianto si comincia a notare qua e là, sul feltro bianco aereo una lievissima colorazione rosea che poi si accentua e si estende anche al terreno di cultura. Non si formano conidi, mentre i periteci sono numerosissimi, ma immaturi.

Sub. N. 9. — Come sul terreno N. 8, però con meno sviluppo fioccoso bianco. Il colore rosa è leggermente più carico, ma compare con lieve ritardo. La formazione dei periteci è più rapida e sono presenti anche i conidi sebbene in quantità limitatissima.

Sub. N. 10. — Sviluppo rapido con produzione di feltro bianco aereo. In qualche punto si ha una leggera sfumatura rosea presto soffocata dal colore verde bruno che assumono le ife a contatto col substrato. I periteci, che pure cominciano a formarsi dopo 8 o 9 giorni, non sono ancora maturi. La forma conidica è assente.

Sub. N. 11. — Sviluppo in tutto paragonabile al precedente. Anche in questo i periteci cominciano a formarsi

assai presto giungendo però a maturare in poco tempo; essi si trovano ravvicinati in gruppi abbastanza numerosi. È presente qualche raro conidio.

Terreni liquidi.

Sub. N. 12. — Sviluppo lentissimo a fiocchetti bianchi prima, poi bruno verdastri. Il liquido assume una lieve colorazione giallognola. Nessuna fruttificazione, nè conidica, nè periteciale.

Sub. N. 13. — Sviluppo ancora più lento che nel precedente. Conidi assenti e periteci rarissimi, molto piccoli e immaturi.

Sub. N. 14. — Sviluppo lento fino a quando la colonia non ha raggiunta la superficie del liquido, poi discreto. Il colore della colonia è bianco opaco, ma a contatto delle pareti del recipiente acquista la solita colorazione verde bruna ed ivi si formano i conidi. Periteci in via di sviluppo ed aggregati.

Sub. N. 15. — Sviluppo come il precedente. Forte imbrunimento di alcune zone nelle quali si trovano numerosissimi conidi. Periteci assenti. Substrato fortemente iscurito.

Sub. N. 16. — Sviluppo quasi nullo. Periteci ancora nei primi stadi di sviluppo. Presente è pure la forma conidica. Nessuna variazione nel colore del liquido di cultura.

Sub. N. 17. — Sviluppo scarso. Alla superficie le colonie hanno assunto colorazione verde bruna. Entrambe le fruttificazioni sono presenti sebbene in piccolo numero. Periteci quasi maturi.

L'esame microscopico delle culture mi ha permesso di vedere come le caratteristiche morfologiche del fungo si mantengano abbastanza costanti su quasi tutti i ter-

reni. In generale, il micelio che si trova affondato nel substrato è ialino e spesso più sottile di quello superfi-



Fig. 11. — Parte apicale di un asco fortemente ingrandita. (× 1000).

ciale, il quale è quasi sempre imbrunito e di calibro più uniforme. Qualche differenza si può notare da substrato a substrato riguardo alla guttulazione delle ife, alla lun-

ghezza dei segmenti, alla regolarità della loro grossezza (Fig. 12), ma in generale ho visto che questi caratteri



Fig. 12. — *a*) Ife moniliformi frequentissime nelle culture in soluzione di Asparagina e Glucosio (Sub. n. 12); *b*) Aspetto del micelio nella soluzione precedente agarizzata (Sub. n. 3); *c*) Conidi anormali nel substrato n. 3; *d*) Micelio, conidiofori e conidi in Asparagina agarizzata (Sub. n. 6).

variano assai anche nello stesso substrato; così la presenza di micelio ad aspetto toruloide è quasi generale,

però in alcuni terreni si incontra di rado, mentre in altri è più frequente e può accadere che esso sia tanto abbondante da costituire la maggior parte del micelio presente su quel substrato; ciò si verifica, per esempio, nella asparagina agarizzata.

Alcune differenze esistono pure nelle fruttificazioni conidiche, specie per quello che si riferisce all'intensità della colorazione bruna dell'episporio, mentre il modo di septazione appare quasi identico per tutti i substrati. Generalmente in cultura sono più scuri di quelli che si formano sui frutti e spesso la zigrinatura dell'episporio è più evidente; solo su asparagina glucosata ed agarizzata si hanno fruttificazioni diverse dalle normali come si può vedere dalla figura 12. Esistono infine differenze di grandezza e di uniformità nelle dimensioni dei conidi, differenze che le misurazioni hanno posto in evidenza. Riporto senz'altro i risultati di tali misurazioni facendo notare solo che, sebbene il numero dei conidi misurati sia stato di appena 30 per ogni substrato, credo che le medie possano ritenersi abbastanza esatte; tuttavia ho ritenuto opportuno considerare anche i valori di massima frequenza. Come termine di confronto ho aggiunto alla tabella i dati ottenuti per i conidi sviluppatisi sui limoni inoculati.

Substrato	Dimens. minime		Dim. massime		Dim. medie		Valori più frequenti	
	lung.	larg.	lung.	larg.	lung.	larg.	lung.	larg.
Limone	15	10	37,5	25	24,75	15,8	21–24	15–17,5
n.° 1	15	10	27,5	20	21,15	14,4	18–23	13–15
» 2	12,5	10	27,5	17,5	18,75	14,1	18–21	13–15
» 3	15	10	32,5	25	23,75	15,9	22–25	15–17
» 4	17,5	12,5	27,5	20	22,4	15,3	20–23	15–17
» 6	12,5	10	22,5	15	18	12,5	17–20	12–13
» 7	12,5	10	27,5	20	20	13	20–23	12–15
» 15	12,5	10	25	17,5	17,5	13,2	16–18	12–14
» 16	17,5	10	35	17,5	24,15	14,55	22–25	13–15
» 17	17,5	10	30	17,5	23,05	14,15	20–25	13–15

Ho tralasciate le misure dei conidi sui terreni nutritizii n. 5, 9, 11 e 14, perchè il loro numero, estremamente piccolo, non mi ha permesso di ottenere dati attendibili; sugli altri quattro substrati il *Macrosporium* non mi ha fornito fruttificazioni conidiche.

Non sarà forse inutile un breve riepilogo dei risultati ottenuti dalle 17 culture sperimentate per quello che riguarda la comparsa o meno delle diverse fruttificazioni. Nel seguente quadro i substrati sono raggruppati appunto in base a questo concetto.

I) Terreni in cui si sviluppano entrambe le fruttificazioni:

1.° Con periteci maturi:

Soluzione con fosfato ammonico agarizzata;
Liquido di Dox agarizzato;
Carote in pezzi.

2.° Con periteci immaturi (alcuni forse matureranno più tardi (1):

Decotto di carote agarizzato;
Asparagina (con e senza glucosio) agarizzata;
Soluzione di Dunham liquida e agarizzata;
Decotto di patate glucosato e agarizzato (alcalino);
Soluzione con fosfato ammonico;
Liquido di Dox.

II) Terreni in cui si sviluppa una sola fruttificazione:

1.° Con soli conidi:

Brodo di carne con e senza aggiunta di agar.

2.° Con soli periteci (ancora immaturi) (1):

Decotto di patate glucosato e agarizzato (acido);
Patate in pezzi;
Soluzione di asparagina.

III) Terreni in cui non si ha alcuna fruttificazione:

Soluzione di asparagina e glucosio.

---

(1) Quattro mesi dopo il trapianto i periteci erano ancora immaturi.

***

Nel corso delle esperienze di cultura sui diversi substrati notai che su pezzi di carota e di patata il feltro cotonoso bianco, dovuto allo sviluppo aereo del fungo, assumeva qua e là una lievissima sfumatura rosea che scompariva ben presto perchè soffocata dal colore bruno delle colonie. Anche su agar di patate glucosato ottenni la colorazione rosea, ma in questo terreno di cultura, anzichè scomparire col tempo, si fece sempre più intensa fino a divenire rosso fragola e si diffuse anche nel substrato il cui colore si cambiò in rosso vinoso.

Prelevando un frammento di micelio in corrispondenza delle zone più vivamente colorate ed osservandolo al microscopio, mi accertai che la sostanza colorante si trovava anche nell'interno delle ife. Si tenga presente che, se si vuole osservare bene il colore del micelio, occorre fare il preparato senza aggiungervi acqua, perchè altrimenti il pigmento si discioglie nel liquido e le ife appaiono allora ialine.

Ho voluto vedere se la reazione del mezzo sul quale vegetava il fungo aveva influenza sulla comparsa della colorazione ed eventualmente anche sul colore stesso del pigmento e perciò ho aggiunto ai substrati già sperimentati quello ottenuto dallo stesso agar di patate glucosato rendendolo alcalino per aggiunta di carbonato sodico. Naturalmente, per controllo rifeci le culture sull'agar di patate glucosato ad acidità naturale. Così operando, constatai che nei matracci contenenti il terreno di cultura a reazione alcalina si ebbe un ritardo di due giorni nella comparsa della caratteristica colorazione rispetto a quelli che avevano reazione acida e che la colorazione stessa si presentava leggermente più scura, pur rimanendo sempre sul rosso fragola.

Allo scopo di fissare alcune proprietà chimiche di questa sostanza colorante ho fatte alcune prove ed ecco quanto ho potuto stabilire in base ai risultati ottenuti.

Il pigmento in parola è solubile in acqua, alcool ed ammoniaca e il colore di dette soluzioni, molto diluite, è giallo rosa; esso si scioglie anche in solfuro di carbonio (molto stentatamente), mentre non è solubile nell'etere di petrolio e nello xilolo; la soluzione in solfuro di carbonio è di color giallo arancio. Nessuna di dette soluzioni è fluorescente.

Le soluzioni acquose ed alcooliche hanno reazione neutra. Il loro colore rimane inalterato per aggiunta di acqua ossigenata e di acido cloridrico.

L'acetato di piombo a freddo non ha alcuna azione sulle soluzioni suddette, ma, col riscaldamento, dalla soluzione acquosa si ottiene un lieve precipitato fioccoso roseo.

La soda caustica al 10% fa virare al rosa il colore della soluzione acquosa, mentre non altera quella alcoolica.

Il cloruro ferrico non agisce nè a caldo nè a freddo sulla soluzione acquosa, mentre aggiungendolo a quella alcoolica, ne rafforza il colore che tende all'arancio col riscaldamento. Se alla soluzione alcoolica contenente cloruro ferrico si aggiunge soda caustica, si ha un precipitato arancione (la reazione è più rapida a caldo), se invece si aggiunge acido cloridrico, si ottiene una bella colorazione giallo oliva chiaro della massima lucentezza e senza alcuna fluorescenza.

Evaporando la soluzione alcoolica sopra un vetrino porta-oggetti ed esaminando il deposito così ottenuto al microscopio ho visto che la sostanza colorante si separava sotto forma non cristallina.

*
* *

Dal punto di vista dell'attività fisiologica, le mie ricerche sono state rivolte verso due importantissime manifestazioni di detta attività: la produzione di acidi e di enzimi.

È da notare anzitutto che la *Pleospora* pur sviluppandosi bene anche sui terreni neutri o leggermente alcalini, preferisce i substrati acidi, sui quali vegeta più abbondantemente e spesso con maggior rapidità. Data questa lieve preferenza, ho voluto vedere se, trapiantando il micelio su di un terreno neutro, si potesse notare un cambiamento nella reazione del substrato in seguito all'accrescimento fungino.

Per questa prova usai brodo di carote reso neutro per aggiunta di carbonato sodico; su questo terreno liquido la *Pleospora* vegeta rapidamente ed abbondantemente.

Con questo substrato preparai tre matracci inoculandone due e tenendo il terzo come controllo. Dopo 17 giorni, cioè quando la colonia si fu notevolmente sviluppata, saggiai il liquido di cultura con cartine alla laccamuffa e notai una sensibile produzione di basi da parte della *Pleospora*. Il saggio col metodo colorimetrico mi indicò che il pH del brodo di carote nel quale si era sviluppato il fungo era di circa 7,6-7,8 mentre il controllo aveva un pH = 6,6-6,8. Questi valori sono però molto approssimativi perchè il colore naturale del substrato influisce su quello dovuto all'indicatore.

Anche in tubi contenenti agar di asparagina e glucosio (substrato n..3) neutralizzato e reso sensibile alla variazione di reazione con l'aggiunta di laccamuffa, il colore rosso violaceo che l'indicatore aveva fatto assumere al terreno di cultura si cambiò in bleu, ponendo così in evidenza una produzione di basi sensibile.

Le ricerche sulla produzione degli enzimi sono state orientate in modo da porre in evidenza alcune di queste sostanze che assumono spesso grande importanza nei rapporti fra i parassiti e i loro ospiti; più precisamente ho ricercata la presenza della amilasi, della pectinasi, della citasi e degli enzimi proteolitici.

Allo scopo di accertare se la *Pleospora* ha la proprietà di emettere l'amilasi, feci alcune culture su pezzi

di patata prelevati asetticamente, non potendo ricorrere alla sterilizzazione col calore per non alterare l'amido, cosa che avrebbe impedita l'osservazione. Sebbene usassi tutte le precauzioni possibili, lavando prima i tuberi in sublimato corrosivo all'1‰, poi in acqua sterile; bagnando i ferri e il foratappi che mi servivano per il prelevamento in alcool e passandoli poi alla fiamma, e finalmente introducendo, con la maggior rapidità possibile, i pezzi di patata così ottenuti in tubi perfettamente sterili, contenenti una piccola quantità d'acqua per impedire l'essiccameno del substrato, solo dopo quattro tentativi inutili mi fu possibile ottenere qualche tubo immune da bacteri e che mi permise quindi osservazioni attendibili.

Dopo sette giorni dal trapianto sui pezzi di patata il fungo era già abbastanza sviluppato e perciò procedetti alla osservazione facendo sezioni nelle parti infette. In questo modo constatai però che la penetrazione del micelio nei tessuti era avvenuta solo per brevissimo tratto e che sarebbe quindi stato preferibile attendere ancora qualche tempo. Malgrado ciò, la presenza di alcuni, rarissimi, granuli d'amido mostranti le caratteristiche figure di corrosione e che davano con lo jodio una colorazione bruna anzichè quella caratteristica bleu, mostrava che, molto probabilmente, c'era stata una produzione di amilasi, sebbene in quantità quasi insignificante.

A proposito della reazione bleu dell'amido trattato con la soluzione jodo-jodurata, che facevo avvenire nel preparato stesso per meglio osservarla, ho notato che non tutti i granuli d'amido si coloravano, ma che parecchi rimanevano incolori; il fenomeno era quasi generale per quelli che si trovavano dentro le cellule invase dal micelio fungino, ma si verificava anche per moltissimi di quelli liberi nel preparato. Con tutta probabilità ciò era dovuto alla presenza di una sostanza capace di impedire la reazione. Di queste sostanze il Tunmann [17] ne ricorda parecchie, alcune delle quali inor-

ganiche (p. es. l'acido cromico, l'ammoniaca, l'acido nitrico, l'idrogeno solforato, ecc.), ed altre organiche (p. es. la gomma arabica, l'idrochinone, la resorcina, il tannino, ecc.). Nel caso presente però fra le sostanze inibenti di natura organica sarebbe da escludere il tannino perchè, usando come reagente il cloruro ferrico, non ho ottenuto il precipitato bruno dovuto al tannato che si forma nella reazione; molto verosimilmente invece si tratta di un prodotto di escrezione del fungo.

Per la pectinasi e la citasi le ricerche si svolsero contemporaneamente coltivando il fungo su pezzi di carota prelevati asetticamente seguendo lo stesso metodo usato per le patate.

Anche queste culture furono osservate dopo sette giorni quando già si cominciava ad avere un leggero rammollimento della parte invasa dal micelio e l'esame microscopico mi permise di osservare come il fungo abbia la facoltà di emettere pectinasi in discreta quantità, perchè le lamelle mediane erano in parte idrolizzate, non ancora abbastanza però per determinare il distacco delle singole cellule, mentre nulla di preciso posso affermare sulla produzione di citasi in quanto gli ispessimenti secondari delle pareti non pareva fossero stati alterati. A giudicare però dalla possibilità di penetrazione del micelio attraverso le pareti cellulari, cosa chiaramente visibile nei preparati, si dovrebbe supporre che anche la cellulosa venga decomposta dalla *Pleospora*.

Allo scopo di porre in evidenza una eventuale produzione di enzimi proteolitici, feci alcune culture nella soluzione di asparagina glucosata, usata già per l'osservazione del comportamento del fungo su differenti substrati, resa solida mediante l'aggiunta di gelatina. Potei così osservare che la *Pleospora* non produceva enzimi fluidificanti la gelatina stessa.

*
* *

Un fatto di non poco interesse pratico è la grande resistenza che oppongono i conidi del fungo alla azione degli anticrittogamici, almeno per ciò che riguarda quelli da me sperimentati, che pure sono da considerarsi fra i più attivi verso la maggior parte dei parassiti fungini. Le prove fatte in goccia pendente con solfato di rame, hanno dimostrato che una concentrazione dello 0,1‰ ha solamente una azione ritardatrice sulla germinazione la quale si effettua lentamente, ma sensibilmente e non è arrestata, dopo un breve allungamento del tubetto germinale, che dalla soluzione al 0,5‰ ; infine, solo all'1‰ il solfato di rame ha azione veramente inibitrice.

Questa eccezionale resistenza trovò una conferma in altre prove fatte con l'Uspulun e con una poltiglia solfo-calcica. Per l'Uspulun infatti, occorreva una concentrazione dell'1% per impedire la germinazione la quale è però arrestata, dopo che il filamento emesso dalle spore ha raggiunta appena la lunghezza di 15-20 μ, dalla soluzione al 0,5% ed anche da quella all'1‰. Diluendo ancora non si ha che un ritardo nella germinazione.

Verso la poltiglia solfo-calcica i conidi si dimostrarono ancora più resistenti in quanto essi germinavano, sebbene con difficoltà, anche in soluzioni dell'1,5-2%. Debbo però notare che questo ultimo anticrittogamico doveva essere in parte alterato perchè la sua azione su conidii di *Sphaerotheca pannosa*, con i quali ne volli provare l'efficacia, si dimostrò alquanto minore del normale.

Certamente l'episporio spesso e resistente dei conidi del fungo in parola deve avere una parte non trascurabile nel loro comportamento verso gli anticrittogamici, ma, come risulta dalle prove ora citate, il filamento emesso durante la germinazione è pure resistentissimo, e per determinarne l' arresto occorrono concentrazioni sempre

molto alte. Sarebbe interessante vedere anche fino a quale percentuale bisogna giungere per uccidere le spore in modo da togliere loro definitivamente ogni facoltà di germinazione, ma bastano i risultati ottenuti per convincersi che molto difficilmente si potrebbero ottenere risultati praticamente soddisfacenti con un metodo di lotta basato su anticrittogamici.

*
* *

Le ripetute prove di inoculazione eseguite con frammenti di micelio introdotti nell'interno dei frutti attraverso a ferite, hanno dimostrato all'evidenza la facoltà posseduta dal fungo di attaccare, ed anche con notevole rapidità, i limoni che per qualsiasi ragione presentino soluzioni di continuità della buccia, anche se perfettamente sani ed appena staccati dalla pianta. Non avendo sotto mano piante di limone non ho potuto accertarmi se i frutti sono suscettibili agli attacchi della *Pleospora* prima ancora di essere staccati dall'albero, però, a giudicare dall'estrema facilità con la quale il marciume si manifestò su alcuni frutti ancora portati dal rametto, il quale era tenuto al fresco in un recipiente pieno di acqua, parrebbe che anche nelle condizioni migliori di resistenza, i limoni possano soggiacere all'infezione qualora il fungo, trovando una via d'ingresso, giunga a penetrare sotto all'epidermide.

Per accertarmi infine se la *Pleospora* si trovasse nella possibilità di aggredire i limoni anche attraverso alla buccia non lesionata, ho condotto un esperimento il cui risultato è stato negativo, ma che dovrebbe essere ripetuto, apportandovi opportune modificazioni, su un numero molto maggiore di limoni per costituire una prova attendibile. Il metodo usato per l'esperienza consisteva nel porre in una goccia d'acqua sulla superficie del frutto un filamento di micelio portante conidi e nel limitare poi

l'ambiente in cui veniva a trovarsi la goccia per mezzo di un tubo riempito in parte di cotone umido e tenuto in posto da paraffina. Il tubo funzionando così da camera umida, impediva l'evaporazione e manteneva l'umidità favorevole alla germinazione dei conidii.

Sebbene cercassi di facilitare l'ingresso del micelio inoculandolo sulla superficie di distacco del picciolo, non ho mai ottenuto che un ciuffetto superficiale di ife direttamente derivanti dal micelio da me collocato sul frutto. In un sol caso, tagliando uno dei limoni così trattati, vidi un leggero imbrunimento che, partendo dalla cicatrice del picciolo, si spingeva per brevissimo tratto verso l'interno del frutto, ma all'esame microscopico non mi fu possibile stabilire se vi si trovassero filamenti micelici e quindi se si potesse attribuire l'imbrunimento stesso alla penetrazione della *Pleospora*.

A nessuno può sfuggire l'importanza e quindi l'utilità di un accertamento più accurato su questo punto in quanto, se si dimostrasse che il fungo in parola è capace di attaccare i frutti perfettamente sani tanto internamente che esternamente, dovremmo considerarlo come un vero e proprio parassita e quindi molto più pericoloso di quanto lo è già come semplice saprofita.

Anche ammettendo questo però, le condizioni più favorevoli allo sviluppo di questo marciume si verificano nei magazzini dove la diffusione dei germi del parassita riesce molto agevolata e la recettività dei frutti notevolmente accresciuta, e perciò, ogni provvedimento atto ad assicurarne la migliore conservazione riescirà utile pure nella limitazione della malattia.

Dovendosi ragionevolmente abbandonare ogni tentativo diretto di lotta contro questo fungo, la cui estrema diffusione come saprofita di organi diversi di moltissime piante e la cui resistenza veramente notevole alle cause avverse e agli anticrittogamici difficilmente ci permetterebbero di ottenere risultati soddisfacenti, siamo costretti a ricorrere a puri e semplici provvedimenti indi-

retti miranti principalmente ad evitare o almeno a limitare qualsiasi lesione od alterazione della buccia, le quali costituiscono se non l'unica, certamente la più comune e la più comoda via di attacco, e a produrre frutti le cui perfette condizioni di sanità li rendano meno adatti ad accogliere il parassita. A questo ultimo risultato concorrono tutte quelle pratiche culturali dirette a proteggere le piante dai deperimenti dovuti a cause di natura meteorica, fisiologica e parassitaria.

RIASSUNTO.

1. — Da un limone proveniente dalla Sicilia ho isolato la forma conidica della *Pleospora herbarum* (*Macrosporium communis* (Pers.) Rab. come agente di un marciume secco del frutto.

2. — Non mi risulta che il parassita in parola sia mai stato trovato sui frutti del genere *Citrus* e in ogni modo credo poter affermare che non si tratta nè della *Pleospora Hesperidearum* Catt., nè di quella citata dal Fawcett.

3. — La sua capacità di determinare la malattia è stata dimostrata da ripetute prove di inoculazione.

4. — I caratteri morfologici del fungo si sono mantenuti abbastanza costanti su tutti i 17 differenti substrati sperimentati.

5. — Nella maggior parte dei substrati si ha produzione di fruttificazioni sia conidiche che periteciali; qualche cultura presenta un solo tipo di fruttificazione. In un solo terreno il micelio rimase completamente sterile.

6. — Su pezzi di carota e di patata si ottiene una lieve colorazione rosea presto sopraffatta dall'imbrunimento delle colonie. La stessa colorazione, ma più intensa e permanente si ottiene su agar di patate glucosato.

7. — La reazione del mezzo di cultura non influisce sulla comparsa del pigmento rosso.

8. — Sono state fatte brevi ricerche sulle proprietà chimiche del pigmento suddetto.

9. — Ricerche sull'attività fisiologica del fungo hanno portato ai risultati seguenti:

a) produce basi se coltivato in mezzo neutro;

b) produce quantità piccolissime di amilasi;

c) produce pectinasi in discreta quantità;

d) non risulta produzione sensibile di citasi sebbene ritenga che questo enzima sia da comprendere fra i prodotti dell'attività fungina;

e) non fluidifica la gelatina;

f) molto probabilmente un suo prodotto di escrezione è capace di impedire la reazione dello jodio con l'amido.

10. — I conidi della *Pleospora* (*Macrosporium*) sono resistentissimi all'azione degli anticrittogamici sperimentati: Uspulun, solfato di rame, poltiglia solfocalcica.

11. — Per il verificarsi dell'infezione sui frutti pare sia necessaria la presenza di lesioni della buccia.

12. — Qualsiasi metodo di lotta diretta contro questo marciume risulta pressochè inefficace e dobbiamo quindi limitarci a curare il mantenimento delle migliori condizioni di vegetazione delle piante e la conservazione razionale dei frutti.

F. Cocchi.

BIBLIOGRAFIA.

1. — Berlese A. N., *Icones fungorum, Pyrenomycetes II, 1900.*

2. — Bolle P. C., *Die durch Schwärzepilze* (*Phaeodictyae*) *erzangten Pflanzenkrankheiten.* Riassunto in « Rev. App. Myc. », pagine 60-62, 1925.

3. — Brinkman A., *De roodneuzen-ziekte van Phaseolus vulgaris L. veroorzaakt door Pleospora herbarum* (*Pers.*) Rbh., 1931, pagine 42-47 e 82.

4. — Brooks F. T., *Plant diseases,* 1928.

5. — Cattaneo A., *La nebbia degli esperidî.* « Arch. Lab. Critt. presso la R. Univ. Pavia, pp. 3-8, Tav. VI, 1882.



F. COCCHI - Alterazione dei limoni prodotta da Pleospora herbarum.

6. — CAVARA F. e MOLLICA N., *Ricerche intorno al ciclo evolutivo di una interessante forma di Pleospora herbarum (Pers.) Rab.* « Annales Mycologici », vol. 5.°, n. 2, 1907, pp. 119–149.

7. — DUGGAR B. M., *Fungus diseases of Plants*, 1909.

8. — FAWCETT H. S. and LEE H. A., *Citrus diseases and their control.*, 1926.

9. — FERRARIS T., *Flora italica cryptogama.* Parte I, Hyphales.

10. — — — *Trattato di Patologia e Terapia vegetale.* Milano, 1926.

11. — GIBELLI G. e GRIFFINI L., *Sul polimorfismo della Pleospora herbarum.* « Arch. Trienn. Lab. Critt. della R. Univ. di Pavia », vol. I, pp. 53–92, 1874.

12. — MASSEE G., *Diseases of cultivated plants and trees*, 1910.

13. — PEGLION V., *Di una speciale infezione crittogamica dei semi di Erba Medica e di Trifoglio.* Estratto da « Stazioni sperim. agrar. ital. » 1903, vol. XXXVI, fasc. III, pp. 198–204.

14. — PENZIG O., *Studi sugli agrumi e sulle piante affini*, 1887.

15. — SACCARDO A., *Sylloge fungorum.*

16. — STEVENS F. L., *The fungi which cause plant diseases.* N. Y., 1913.

17. — TUNMANN O., *Pflanzenmikrochemie*, pp. 501–502, 1913.

18. — ZELLNER J., *Chemie der höheren Pilze*, 1907.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA III.

Fig. 1. — Limone presentante il caratteristico imbrunimento dovuto alla infezione fungina (grandezza naturale).

» 2. — Limone inoculato a distanza dall'apice e fotografato dopo un mese (grandezza naturale).

» 3. — Frutto inoculato e fotografato contemporaneamente al precedente (leggermente ingrandito).

» 4. — Peritecio maturo di *Pleospora herbarum* sviluppatosi nel substrato n.° 5. (Ingrandimento $\frac{100}{1}$).



Il metodo d'isolamento della "Phytophthora cambivora"

Da alcuni studiosi stranieri della malattia *dell'inchiostro* del castagno mi è stato chiesto in diverse occasioni qualche indicazione atta a rendere più sicuro il risultato positivo dei tentativi d'isolamento dell'agente specifico di questa malattia, giacchè nella maggioranza dei casi non si riesce ad isolare dai tessuti infetti che delle forme banali di batteri o di funghi.

Nella mia memoria sul *mal dell'inchiostro*, pubblicata nel 1917 (1), e in quelle successive sono esposte le ragioni della difficoltà che s'incontra nei tentativi d'isolamento del parassita ed il metodo che si deve seguire per raggiungere un tale scopo, ma il metodo è esposto sotto forma d'indicazioni succinte e quasi mai riunite in un insieme nettamente separato da tutto il resto delle osservazioni e risultati concernenti le varie fasi delle ricerche, per cui non riesce facile, specialmente a chi non possegga tutte le mie pubblicazioni sull'argomento, di trarre dalla lettura di alcuni miei lavori una serie d'indicazioni che sieno di guida sicura per ottenere l'isolamento della *Phytophthora cambivora* (2).

Ho creduto quindi opportuno riunire in questa breve nota tutte le prescrizioni da seguire a un tale scopo.

1. *Stagione in cui riesce più facile l'isolamento.* — La stagione più favorevole è la primavera e specialmente all'inizio del germogliamento dei castagni o poco prima,

---

(1) Petri L., *Studi sulla malattia del castagno detta « dell' inchiostro »* « Annali R. Ist. Sup. Forestale » II, 1927. 4 Tav. e 41 figg. nel testo.

(2) Succintamente il metodo è indicato nella pubblicazione seguente: *Istruzioni pratiche per riconoscere e combattere la malattia del castagno detta dell' inchiostro,* « Nuovi Annali dell'Agricoltura », IV, 1924.

quando il cambio e l'alburno sono ricchi di acqua ed è ancora molto elevata la pressione radicale.

In questo periodo il micelio della *Phytophthora* si accresce attivamente nel cambio dopo l'arresto subìto nell'inverno.

2. *Scelta delle piante dalle quali più facilmente può esser fatto l'isolamento.* — Le piante che più si prestano allo scopo sono quelle giovani sino all'età di 30 anni, ma in molti casi anche le piante assai più adulte possono costituire ottimi soggetti per effettuare l'isolamento. Le piante da prescegliere devono presentare l'inizio del disseccamento dei rami e da un solo lato della chioma. Saranno da preferirsi quelle che in corrispondenza di uno o più rami secchi presentino sullo stesso lato il disseccamento dei germogli nati alla base del fusto. Naturalmente l'esame della regione basale delle radici che si trovano su quello stesso lato dovrà rivelare il noto marciume nero.

3. *Scelta del punto dove si deve prelevare il materiale da cui dovrà esser fatto l'isolamento.* — Con un'accetta dovranno esser tolti piccoli tasselli di corteccia dal lato della base del fusto che corrisponde ai rami secchi od eventualmente ai germogli basali secchi. Il prelevamento di questi tasselli dovrà esser fatto incominciando dal livello del terreno. Tali saggi servono a stabilire se e dove si trovano zone di tessuto cambiale necrosato, ben riconoscibile dal colore bruno che esso acquista dopo la morte. (Cfr. fig. 2).

Una volta individuata una di tali zone, che si assottigliano sempre verso l'alto terminando in punta (fig. 1), occorre staccare dei tasselli costituiti da corteccia e da alburno sul limite apicale o laterale della zona necrotica, in modo da avere nei tasselli prelevati una porzione di cambio infetto ed una porzione ancora sana (fig. 3).

La demarcazione fra queste due porzioni è spesso netta e in molti casi il tessuto sano forma quasi un cercine rilevato, mentre è leggermente depresso il tessuto morto.

Da simili tasselli non si può isolare la *Phytophthora*. Se invece il tessuto imbrunito è limitato verso il tessuto sano da una ristretta zona livida che sfuma nel colore

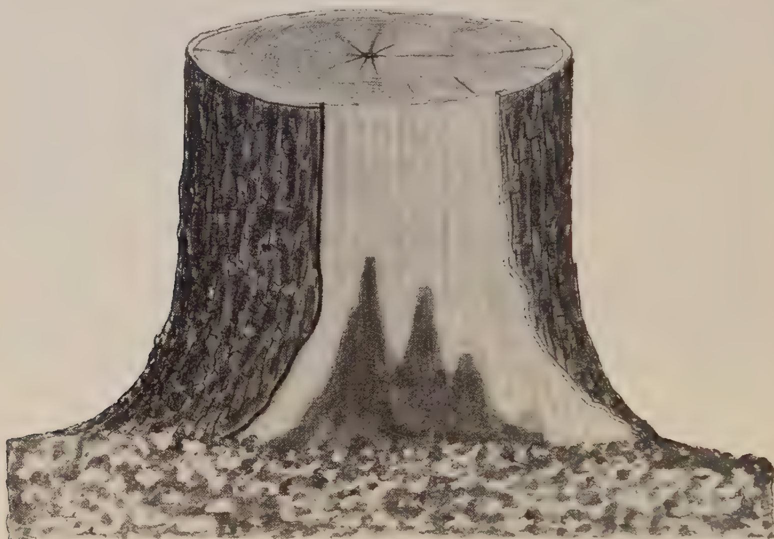


Fig. 1. — La base di un fusto di castagno colpito dalla *malattia dell'inchiostro*. La corteccia è stata tolta in parte per mostrare la necrosi del cambio che dal colletto sale al disopra del livello del suolo.

bianco-giallastro del tessuto sano (1), allora è possibile isolare il fungo parassita dal cambio e dagli strati profondi della corteccia in corrispondenza della zona limite fra tessuti infetti e tessuti sani.

L'esame dei singoli tasselli, *che si deve fare staccando la corteccia dall'alburno*, è un'operazione da compiere in laboratorio, quando tutto l'occorrente sia stato preparato per eseguire l'isolamento. Se la corteccia eventualmente si distaccasse dall'alburno nel prelevamento del tassello

(1) La fig. 12 della Tav. V della mia memoria sopracitata rappresenta una zona di necrosi del cambio da cui è possibile isolare il fungo parassita.

dalla pianta e se questo si presentasse adatto per l'isolamento del fungo, conviene ricongiungere immediatamente la corteccia con l'alburno mediante una legatura.



Fig. 2. — La base di un fusto di castagno colpito dalla *malattia dell'inchiostro*. Ricerca della porzione di fusto da cui si devono prelevare i tasselli di corteccia e di alburno per l'isolamento del micelio parassita. La zona necrosata del cambio si trova in corrispondenza della linea punteggiata ed è indicata da quattro germogli disseccati. I tasselli 2, 4 e 5 sono stati tolti da porzioni ancora sane. I tasselli 1 e 3 sono stati tolti dalla regione limite fra tessuti infetti e tessuti sani. Questi due tasselli possono fornire il materiale adatto all'isolamento.

È da notare però che per la rapida ossidazione che avviene dei tessuti sani esposti all'aria, dopo alcun tempo si distingue malamente il limite fra tessuto infetto e

tessuto sano. È quindi da raccomandarsi che, possibilmente, le operazioni di isolamento sieno compiute nel giorno stesso in cui i tessuti sono prelevati, meglio ancora se tali operazioni si potranno fare in un laboratorio provvisorio installato nel castagneto stesso o a breve distanza.

Naturalmente quando i tasselli sono staccati dal fusto l'esame loro sul posto viene limitato ai caratteri presentati dalle due superfici di sezione trasverse che essi presentano. Queste due superfici di sezione o anche una sola, se il tassello prelevato corrisponde allo scopo, dovranno presentare una porzione della corteccia e una corrispondente porzione di cambio e di alburno imbrunite e contigue a rispettive porzioni del colore normale. Nella fig. 3 è rappresentata la superficie di sezione trasversa superiore della sola corteccia e del cambio.

4. *Operazioni d'isolamento.* — Per l'isolamento della *Phytophthora cambivora* non si può adoperare il metodo delle diluizioni, giacchè nel cambio infetto si trova solo del micelio, spesso non molto abbondante. Si può però ricorrere al metodo delle diluizioni se con un ago a lancetta, sterilizzato previamente alla fiamma, si raschia la superficie dell'alburno e quella interna della corteccia e se la poltiglia così raccolta si porta nell'acqua contenuta in un tubo di coltura e da questo si fanno le successive diluizioni, traendo da queste il materiale per la semina di colture piatte, corrispondenti alle singole diluizioni. Dato però che con questo metodo porzioni di micelio della *Phytophthora* si trovano improvvisamente trasportate a contatto dell'agar nutritiva, in un mezzo quindi molto diverso per costituzione chimica e fisica da quello, dove il micelio stesso si era sviluppato, è facile che le porzioni più piccole di esso muoiano.

È quindi preferibile ricorrere al prelevamento di piccoli pezzetti di tessuto (superficie interna della corteccia su cui si trova sempre qualche strato cellulare del cambio) e di trasportare rapidamente e asetticamente questi

ultimi in tubi contenenti l'agar nutritiva. In questo modo il micelio che si trova racchiuso nei tessuti può passare un po' più gradatamente dalla sua vita parassitaria a quella saprofitaria nel mezzo di coltura. Io ho sempre adoperato con buoni risultati il decotto di carote preparato a una temperatura non superiore ai 100° C., leggermente acidificato con acido malico e agarizzato.

Il prelevamento del pezzetto di tessuti da trasportare nell'agar nutritiva si fa mediante un bisturi. Quest'ultimo viene sterilizzato alla fiamma e con la sua punta si fanno sulla superficie interna del tassello di corteccia, *subito dopo il distacco di questa dall'alburno,* quattro incisioni in modo da delimitare un piccolo rettangolo di 5 o 7 mm. di lato. È preferibile delimitare un rettangolo con lati lunghi nel senso longitudinale degli elementi fibrovascolari, perchè il micelio si sviluppa di preferenza in questo stesso senso e quindi, prelevando un pezzetto così orientato, è più facile portare nell'agar un maggior numero di filamenti fungini. Fatte le incisioni, lo stesso bisturi viene infisso in senso tangenziale ed obliquo in modo da sollevare un tassello di tessuto corticale di piccolo spessore e delle dimensioni già delimitate con le incisioni fatte precedentemente. Con lo stesso bisturi, o con un ago previamente sterilizzato alla fiamma, il piccolo pezzetto di tessuti viene trasportato sino all'orifizio di un tubo di coltura contenente l'agar nutritiva ed ivi fatto cadere. In un secondo tempo, mediante l'ago di platino, il pezzetto in questione viene posto ben aderente alla superficie dell'agar, o meglio, viene in questa leggermente immerso.

Di tali isolamenti se ne devono fare almeno 6 per ciascun tassello. Se tutte queste operazioni sono eseguite a poca distanza dalla raccolta dei tasselli dai castagni ammalati, non sono molto da temere gl'inquinamenti da parte di funghi o batteri banali. In moltissimi casi infatti o si sviluppa la *Phytophphora* o le colture restano sterili.

Il micelio di questo parassita è facilmente riconoscibile per la formazione di numerose ife aeree, bianchissime, del tutto sterili. I tubi di coltura devono esser conservati preferibilmente a una temperatura di 15-18° C.

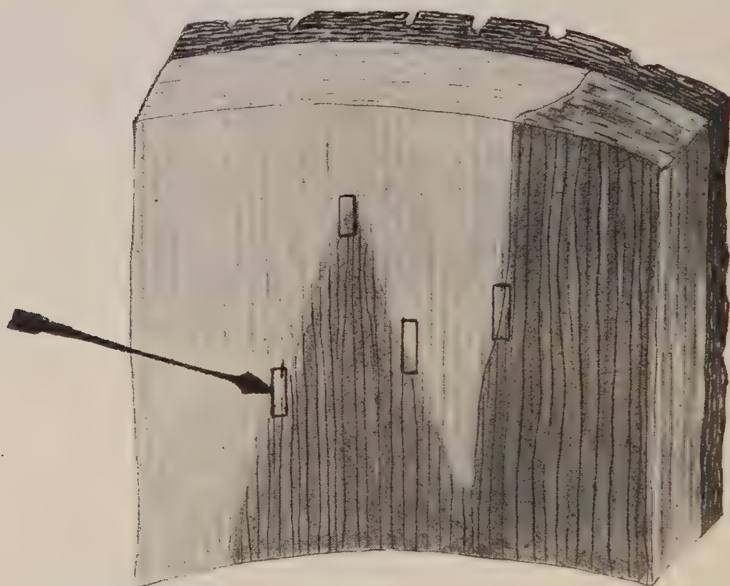


Fig. 3. — La porzione corticale di un tassello prelevato in corrispondenza di una zona necrotica della base del fusto. I rettangoli segnati sul limite dei tessuti imbruniti (infetti) indicano i piccoli pezzetti di tessuti da prelevare e da trasportare in tubi di coltura.

Si può fare un controllo del materiale raccolto per eseguire l'isolamento, esaminando al microscopio sezioni sottili degli strati profondi della corteccia e del cambio e colorando col noto metodo del blu cotone ed acido lattico, oppure esaminando al microscopio la raschiatura fatta col bisturi della superficie interna della porzione di corteccia staccata da un tassello. È allora facile constatare la presenza di frammenti delle grosse ife della *Phytophthora* in mezzo agli elementi istologici del cambio o del parenchima corticale. Naturalmente questo

esame si fa spappolando in una goccia di acqua il materiale prelevato col bisturi.

La necessità della constatazione preventiva della presenza del micelio della *Phytophthora* nel cambio delle zone necrotiche della base del fusto, s'impone tutte le volte in cui non si sia sicuri che le piante di castagno sieno veramente colpite dal *mal dell'inchiostro*.

Io ho descritto ampiamente nei miei precedenti lavori i caratteri che contraddistinguono le piante colpite da questa malattia e non credo di tornare a ripeterli in questa breve nota. Desidero solo ricordare che insieme al disseccamento graduale dei rami ed insieme al caratteristico marciume nero delle radici, il *mal dell'inchiostro* è rivelato anche dalle zone brune, necrotiche, che dal colletto tendono a salire, lungo il cambio, sino anche a un metro di altezza sul fusto. Il caso più comune è quello in cui tali zone di tessuti imbruniti si trovino fra il colletto e 10-20 cm. al disopra del livello del suolo. Nel caso, più raro, in cui l'imbrunimento del cambio non si trovi al disopra del terreno, le esplorazioni da eseguirsi con l'accetta dovranno estendersi verso il colletto.

L. Petri.

MALATTIE DEL PESCO CARATTERIZZATE DA FILLISCOSI

(" Phony disease ,, e " malattia del pennacchio ,,)

In questi ultimi anni in diverse località dell'Italia centrale gli agricoltori si sono trovati di fronte a una sconosciuta malattia del pesco che alla prima comparsa sembrava che dovesse compromettere seriamente la peschicoltura nazionale, oggi in via di grande e promettente sviluppo.

Dai primi sintomi o meglio dall'aspetto delle piante giovani fortemente colpite pareva proprio che la malat-

tia si identificasse col *Phony Peach* degli Stati Uniti d'America, ma una osservazione più accurata delle ma-



Fig. 1. — Pesco *Early Elberta* affetto da malattia del pennacchio. La pianta è interamente ammalata ad eccezione della parte terminale di alcuni germogli che si sono sviluppati nell'ultimo periodo della stagione. Il fogliame è densissimo e l'ombra molto scura, come nei peschi affetti da *Phony Disease*. (Fot. dell'A.; 15 settembre 1931).

nifestazioni dell'infezione, specialmente nelle piante di una certa età, portava a tenerla distinta, per quanto non ci siano ancora dati sufficienti per stabilire la sua vera eziologia.

La malattia segnalata in Italia ha in comune colla *Phony Disease* i sintomi principali. Tutte e due si ma-



Fig. 2. — Pesco *Early Elberta* sano della medesima età e dello stesso filare del pesco ammalato della fig. 1. (Fot. dell'A.; 15 settembre 1931).

nifestano col raccorciamento dei rami e con la *filliscosi* (1). Il fogliame si presenta più folto e costituito da foglie più grosse del normale.

---

(1) Il termine *filliscosi* (lat. *phyllischosis*), derivato dalle parole greche φύλλον « foglia » e ἰσκύς « vigore », viene creato per indicare l'anor-

Per questa strana coincidenza di sintomi credo opportuno illustrarle in uno studio comparativo, per evitare possibili confusioni e per portare a conoscenza degli agricoltori italiani, una grave malattia del pesco, che potrebbe impunemente essere importata, malgrado le disposizioni fitopatologiche vigenti che vietano l'importazione dagli Stati Uniti d'America delle piante fruttifere e delle loro parti.

In questa nota riporto tutto quanto oggi si conosce intorno al *Phony Peach* e le osservazioni finora fatte su la malattia riscontrata in Italia, che descrivo sotto il nome di « malattia del pennacchio » come la chiamano nella regione dove più intensamente si è manifestata.

" Phony Disease ".

Verso il 1885 a Marshallville nella Georgia degli Stati Uniti d'America, veniva segnalata una speciale malattia del pesco caratterizzata principalmente da un minor sviluppo delle piante, le quali erano sempre più basse e meno ampie di quelle normali, sebbene avessero un aspetto più vigoroso e un fogliame più folto e di colore verde più intenso. Per la speciale statura che presentavano, tali piante vennero dagli agricoltori battezzate « ponies » (1) e non furono considerate come affètte da una grave malattia, poichè erano di numero limitato che andava aumentando molto lentamente di anno in anno.

Nel 1900 furono però osservati altri centri di infezione nella medesima località e negli anni successivi la ma-

---

male vigoroso sviluppo delle foglie e quindi anche l'aspetto del fogliame delle piante malate, il quale è sempre più vegeto di quello delle piante sane.

Nel caso della malattia del « *Phony* » il termine mi sembra ancora più significativo, poichè le piante infette emettono in primavera le foglie precocemente e le lasciano cadere in autunno un po' in ritardo.

(1) Da pony = cavallino.

lattia andò sempre crescendo di virulenza, cosicchè al 1915 si estese talmente da diventare una vera minaccia per le grandi coltivazioni di pesco della Georgia. In quell'anno la malattia, dapprima trascurata, venne ad essere rilevata nella sua vera importanza e chiamata *Phony Disease* (1), mentre il « Department of Agriculture » di Washington prendeva i primi provvedimenti per la ricerca della causa e dei mezzi atti a impedirne l'ulteriore sviluppo.

Attualmente la malattia si riscontra in quasi tutti i pescheti industriali della Georgia e in parecchi dell'Alabama, e va estendendosi gradualmente verso il Mississipì.

All'infuori di questi stati la malattia non è stata ancora segnalata tanto in America quanto in Europa e negli altri Continenti [3, 4].

Le piante di pesco affètte da *Phony*, per l'accrescimento stentato dei rami e per il fogliame più denso e più grosso, presentano un'ombra più scura e un aspetto tutto speciale da farle riconoscere facilmente a distanza, in mezzo ad una piantagione, specialmente poi se l'infezione è ristretta soltanto ad alcune piante sparse nel pescheto.

Queste piante mantengono il fogliame un po' più a lungo in autunno, mentre in primavera fioriscono ed emettono le foglie un po' prima di quelle sane; hanno anche leggermente anticipata la maturazione dei frutti, però questi sono più piccoli e diminuiscono di numero

---

(1) La parola « phony » non ha una origine ben nota anche ai fitopatologi americani, i quali hanno trovato appuntata la malattia nei registri ministeriali di Washington sotto il termine di « Phony Disease » che essi hanno accettato e usato. Essa sembra che abbia un'origine locale; l'Hutchins [3] ci dice che si può definire « bastardo, contraffatto, falso » e scrive: « There is no authority for the spelling phoney, as sometimes occurs. The history of the origin and first application of the term « Phony Disease » is not known, but the disorder was called to the attention of the Department by that name in 1915 and has since come into general use as the official name of the disease ».

negli anni successivi. Dopo quattro o cinque anni dalla manifestazione dell'infezione, le piante maturano soltanto alcuni frutti di qualità scadente mentre mostrano spesso nei germogli terminali delle necrosi e delle porzioni disseccate.

Non si conoscono condizioni di terreno che possano favorire od ostacolare lo sviluppo della malattia. Si sono osservate piante di pesco ugualmente infette in condizioni differentissime tanto su terreni superficiali e scoscesi delle colline, quanto su terreni profondi e fertili delle vallate; come pure su terreni vergini, mai coltivati, derivati dal diboscamento e su terreni coltivati da tempo immemorabile.

*
* *

Malgrado la sua gravità, la malattia però non è stata ancora ben studiata. Limitate sono infatti le conoscenze riguardanti l'eziologia, la trasmissibilità, la virulenza dell'infezione nelle diverse varietà di pesco: e quelle poche che si conoscono, le dobbiamo quasi totalmente all'Hutchins [2, 3, 4, 5] del Laboratorio delle malattie del pesco di Fort Valley nella Georgia.

Si sa però che la malattia è una virosi. Essa rientra nel gruppo delle malattie da *virus,* fra le quali il pesco ne conta diverse, come il *Peach yellow* (giallume), il *Peach rosette* (mal della rosetta) e il *little Peach.* Se non abbiamo il *Phony Peach*, le altre virosi del pesco non dovrebbero però mancare in Italia; alcune di queste sono state anche riportate ed attribuite a cause secondarie che non hanno nulla a che vedere con la loro eziologia, tanto ben precisata da Erwin F. Smith e da altri insigni ricercatori. A tali malattie credo che debba principalmente attribuirsi il deperimento di parecchi pescheti segnalato in molte parti d'Italia, i quali sono stati abbandonati o distrutti; l'accurata ispezione di un vero competente potrebbe portare alla identificazione esatta delle cause e a

A

B

L'Aut. fot.

URZI M. — *Malattie del pesco ecc.*

dare ai nostri agricoltori i migliori consigli per prevenire le infezioni e per impedire che esse possano estendersi notevolmente.

Più che come le altre virosi del pesco, il *Phony Peach* si comporta sotto certi riguardi, come un'altra malattia a *virus* ben conosciuta in Italia: il *roncet* della vite, la cui eziologia è stata esaurientemente illustrata dai numerosi e accurati studi del Petri.

Sembra che il « contagium vivum fluidum » della malattia del *Phony* non si diffonda in tutti gli organi della pianta, ma che rimanga circoscritto alle radici, poichè soltanto con l'innesto di queste si è potuto finora riprodurre artificialmente l' infezione [3, 4, 5]). I rami di piante malate innestati su piante sane, perdono tutte le caratteristiche del *Phony* e tornano a vegetare normalmente, mentre i rami di piante sane innestati su piante malate presentano subito i sintomi della malattia; ma se tali rami vengono distaccati dalla pianta e fatti radicare, essi danno luogo — almeno secondo le ricerche finora fatte — ad una pianta sana, la quale rimane tale fin tanto che le sue radici non vengano ad innestarsi con quelle di una pianta malata, o a contrarre l'infezione, come qualsiasi pianta sana, per altra via di contagio sconosciuta.

Anche qualche altra Amigdalacea innestata su una pianta di pesco ammalata può manifestare i sintomi del *Phony*. Praticando un tale innesto con l'*Amygdalus davidiana*, si viene ad avere dei germogli brevissimi che tendono a ramificarsi piuttosto abbondantemente [2].

Secondo gli esperimenti fatti, il principio infettivo risiede quindi nelle radici e non negli organi aerei, i quali vengono a risentire dell'infezione radicale forse per qualche cosa di tossico che circola nella pianta. Di conseguenza i rami di una pianta malata sono intossicati ma non infettati, e possono essere usati come marze senza pericolo alcuno di trasmettere la malattia.

Dagli organi sotterranei non dipende soltanto la con-

tagiosità, ma anche la resistenza che una varietà o una singola pianta può presentare all' infezione. Le piante che si mantengono sempre sane in un campo infetto, non hanno conseguito la loro resistenza per qualità intrinseche interessanti tutto l'albero, ma solo per speciali proprietà delle radici, poichè i germogli di queste piante, innestati su radici malate, manifestano l'infezione, la quale non si verifica invece con l'innesto delle radici.

Le piante resistenti debbono avere nelle radici il mezzo di neutralizzare l'azione del principio infettivo, mentre non debbono possedere negli organi aerei, la possibilità di impedire l'azione delle tossine che circolano in tutti gli organi della pianta malata.

Se però sperimentalmente si è riuscito a riprodurre la malattia solo con l'innesto delle radici, non è detto che in natura la trasmissione avvenga esclusivamente attraverso a questo mezzo. Ci sono pescheti nei quali le piante sono sufficientemente distanti e tali da impedire qualsiasi anastomosi anche fra le ultime terminazioni periferiche del sistema radicale di due piante vicine, eppure l'infezione si verifica e di anno in anno la malattia si estende, interessando l'intero pescheto e possibilmente anche i pescheti vicini. Come può avvenire ciò se il *Phony Peach*, secondo le ricerche attuali, non si trasmette con l'inoculazione del succo delle piante malate, con le punture degli insetti, con l'innesto degli organi aerei, con il seme, col terreno, ma solo con l'innesto delle radici?

Molte lacune si intravvedono nell'eziologia della malattia, le quali debbono essere chiarite: le nozioni che si conoscono sono troppo limitate e non possono essere sufficienti per spiegare tutte le manifestazioni del *Phony Peach*.

Dall'inoculazione alla comparsa dei primi sintomi della malattia corre un periodo di tempo abbastanza lungo, corrispondente a 18 mesi, e per questo, ci possono essere

molte piante d'aspetto veramente sano che hanno l'infezione in incubazione.

Le piante ammalate non muoiono, ma non guariscono. Finora non si è mai osservata la guarigione nelle piante di pesco affètte da *Phony*, mentre si conoscono piante sofferenti da otto anni, le quali continuano a vegetare nel loro modo caratteristico.

L'età della pianta non sembra che abbia influenza su l'attacco della malattia; si conoscono pescheti di dodici anni di età con l'infezione del 99%, e pescheti di quattro anni con già il 60% di piante malate [4].

Le piante di pesco che in un campo infetto resistono all'attacco della malattia, possono essere usate per ottenere, nell'ambito della varietà, stipiti resistenti. A tale proposito, l'Hutchins [5] consiglia di recidere al piede di alcune di queste piante delle grosse radici, di prelevare da tali radici qualche centinaio di pezzi che si prestano all'innesto e di piantarli in un apposito vivaio, dopo di essere stati opportunamente innestati con marze della medesima pianta o di altre piante della stessa varietà o anche di varietà diverse. In questo modo si spera di poter ottenere dei peschi che non abbiano a contrarre il *Phony*. Però finora non si hanno dati sicuri e controllati, si spera che gli studi in corso nel « U. S. Peach Disease Field Laboratory » di Fort Valley nella Georgia possano portare alla selezione di stipiti di piante di pesco che si mantengano, sotto qualsiasi condizione, immuni dalla malattia.

Senza ricorrere al precedente espediente, si possono ottenere peschi immuni a mezzo dell'innesto eterogeneo, usando per soggetto il pruno o un'altra pianta affine, di provata resistenza.

L'unico mezzo che oggi si conosce atto a impedire la estensione del male è quello solito della distruzione dei centri d'infezione, consigliato da Waite fino dal 1915. Questo fitopatologo, ignorando la vera natura della malattia osservò per primo che il *Phony Peach* era infettivo



Fig. 3. — Germoglio di pesco *Early Elberta* affetto da malattia del pennacchio. Sono bene evidenti le lesioni ascellari e le speciali caratteristiche delle foglie. (Fot. dell'A.; 5 settembre 1931).



Fig. 4. — Germoglio di pesco *Early Elberta* sano, fotografato nelle medesime condizioni del germoglio malato della fig. 3.
(Fot. dell'A.; 5 settembre 1931).

e che per circoscriverlo occorreva procedere alla distruzione delle piante malate. Tale mezzo di lotta è rigorosamente applicato negli Stati Uniti e attualmente 40 specialisti ispezionano periodicamente i vari distretti della Georgia e dell'Alabama per ricercare tutti i centri di infezione, distruggere i peschi infetti e applicare le altre disposizioni obbligatorie stabilite da alcune leggi fitosanitarie, emesse appositamente per fronteggiare l'espansione del male. Fra l'altro tali regolamenti stabiliscono, che non si possono spedire piante di pesco da un vivaio situato in una zona ritenuta infetta se esso, pur avendo le piante completamente sane, non dista almeno due chilometri dal pescheto attaccato da *Phony Peach*.

Con l'applicazione di questi mezzi di lotta, la malattia se non completamente arrestata, è stata però frenata nella sua espansione. Le constatazioni fatte negli ultimi anni riportano infatti una diminuzione notevole nella comparsa dei nuovi centri di infezione.

Malattia del pennacchio.

Ai primi di settembre di quest'anno la Cattedra Ambulante di Agricoltura della provincia di Roma inviava in questa Regia Stazione un germoglio terminale di pesco, che venne da me esaminato, il quale aveva le foglie grandi e molto ravvicinate e il ramo più grosso dell'usuale con il tipico aspetto del *court noué*. Un sopraluogo fatto nel pescheto della proprietà Piccirilli presso Roma, ove il campione venne prelevato, mi portò dapprima a dubitare che si trattasse di *Phony Peach*; ma, in seguito, ho dovuto riconoscere che la malattia doveva considerarsi a parte come una infezione a eziologia forse assai diversa.

Il pescheto impiantato da tre anni in una fertile pianura dell'Agro Romano, con le varietà *Sneed*, *Amsden*, *Trionfo*, *Victor*, *Hale* ed *Early Elberta*, presentava soltanto nella zona corrispondente a quella di quest'ultima

varietà quasi tutte le piante con una vegetazione anormale. Allo sguardo apparivano più basse e meno ampie, col fogliame più verde e denso e con l'ombra più scura (Fig. 1).

Alcune piante ugualmente malate si osservavano anche in mezzo alla parte del pescheto impiantata con la varietà *Sneed* soltanto da due anni, ma erano piante di *Early Elberta* che per errore erano state confuse con le altre della varietà desiderata, durante la messa a dimora dei piantoni innestati. Queste piante si distinguevano nettamente dalle altre sane, le quali, nel mese di settembre in cui le ho osservate si rivelavano appena a distanza, sul terreno lavorato di fresco, per la radezza dei rami e del fogliame (Tav. IV, fig. *A*).

L'anno scorso, un colto e appassionato agricoltore, il Prof. Racah [10], in un giornale di divulgazione pratica riportava delle manifestazioni di vegetazione anormale nel pesco, che riferiva a una « nuova e strana malattia ». I sintomi corrispondono perfettamente a quelli riscontrati da me.

Questo Autore osserva la malattia in diverse località della Toscana, nelle provincie di Firenze e di Pisa, e in alcune località del Lazio, nella provincia di Roma. Da una indagine accurata l'infezione potrebbe risultare molto più diffusa di quanto si possa ora immaginare, e molto probabilmente sempre su un'unica varietà. Il Racah la segnala infatti esclusivamente sull'*Early Elberta* e cita come « assolutamente immuni » le altre varietà di *Elberta* e le varietà *Gold Mine*, *Matter's Beauty* e *Hale*.

Contemporaneamente al Racah, un altro studioso di agricoltura della Toscana, il Dott. Ott [6], ha pubblicato in una rivista pratica di frutticoltura, una interessante nota con una lettera del Prof. M. B. Waite, fitopatologo del « Department of Agriculture » di Washington, al quale erano state inviate le fotografie di alcuni rami malati. Il Prof. Waite in tale lettera ha espresso l'opi-

nione che la malattia in questione sia dovuta al parassitismo del *Tarsonemus Waitei* Banks.

L'Ott ha riscontrato la malattia su *Early Elberta*, in un pescheto di 250 piante nèlla provincia di Pisa, costituito oltre che di piante di questa varietà, di piante di *J. H. Hale* e di *Admiral dewey*.

Da informazioni assunte presso gli agricoltori sembra che tale malattia sia presente in tutte le coltivazioni di pesco della varietà *Early Elberta*, e infatti, un sopraluogo da me fatto ultimamente in diverse parti della Toscana, mi ha portato a constatare la presenza della malattia in modo più o meno accentuato sempre su questa varietà : tanto nelle altre *Elberta* come in altre varietà non mi è stato possibile riscontrare tracce di questa infezione.

La manifestazione della malattia soltanto in un'unica varietà lascerebbe pensare più che a una malattia infettiva e parassitaria, a una speciale caratteristica vegetativa dell'*Early Elberta*.

La *Phony Disease*, secondo le ricerche finora fatte, non risparmia nessuna delle varietà di pesco più comunemente coltivate, e per questo sembrerebbe doversi escludere che si tratti di tale malattia, per quanto i sintomi — come dice Waite — « che riguardano le foglie delle piante, di cui egli aveva osservato le fotografie, rassomigliano decisamente a quelli della *Phony Disease* : le foglie grandi e verdi scure portate all'estremità accorciate dei rami corrispondono quasi esattamente a questa malattia ». Ma mentre nella *Phony Disease* le piante non guariscono mai, anzi peggiorano lentamente, nella « malattia del pennacchio », chiamata così dagli agricoltori per il caratteristico aspetto dei rami fortemente malati imitanti un pennacchio, l'infezione è forte nelle piante giovani e va diminuendo sensibilmente nelle piante di una certa età fino a scomparire o a manifestarsi debolmente in alcuni rami terminali.



Fig. 5. — Ramo di pesco *Early Elberta* affetto da malattia del pennacchio, con il germoglio terminale di aspetto quasi normale.
(Fot. dell' A.; 5 settembre 1931).

Nella malattia del *Phony* i sintomi dell'infezione si risentono in tutte le parti della pianta, le quali appartengono a un essere interamente malato sebbene il principio infettivo rimanga localizzato soltanto in alcuni dei suoi organi, nell'altra invece i sintomi si manifestano là dove si riscontrano delle speciali lesioni all'ascella delle foglie. In questo secondo caso, nella medesima pianta e nello stesso ramo, si possono avere foglie, rami e porzioni di rami normali e anormali. Le ultime cacciate che si osservano alla fine di settembre o in ottobre non hanno il tipico *court noué* e spesso mancano anche delle lesioni ascellari; le foglie sono leggermente arrotolate su la nervatura mediana come quelle delle piante sane (Fig. 4) e mai rigide, con la nervatura mediana quasi diritta e con il lembo curvato in alto a doccia come le sottostanti della parte accorciata del ramo (Fig. 5).

Le foglie malate hanno fra l'altro il picciolo più grosso per un maggiore accrescimento del parenchima corticale, il quale in sezione mostra anche di essere costituito di cellule più grandi. La base di attacco del picciolo al ramo è evidentemente più ampia; al disotto dell'inserzione della foglia, il cilindro corticale del ramo è più sviluppato in confronto della parte appena superiore, e sembrerebbe che a questa differenza di accrescimento del ramo fossero dovute le lesioni ascellari a forma di triangolo isoscele con la base rivolta alla gemma e il vertice in alto (Figg. 3, 5, 6 e 7).

Sezionando il ramo poco al disopra della foglia, in corrispondenza della macchia il parenchima corticale ha uno spessore minore, mentre nel medesimo punto dei rami di piante sane, lo spessore è uniforme da ogni lato.

Le macchie di dermatosi sono dovute sempre a una lacerazione dell'epidermide, ma tale fatto avviene per una necrosi del tessuto epidermico prodotta da un agente patogeno o perchè questo tessuto non può seguire — forse per il minore afflusso di materiale plastico — l'anormale accrescimento dello spessore del ramo?

Le osservazioni da me fatte finora mi portano a ritenere che si abbia veramente la morte dell'epidermide prodotta molto probabilmente dall'azione di un agente parassitario; infatti, nel caso di infezioni leggere che frequentemente si riscontrano nelle piante ben sviluppate, si osservano alcune macchie anche in rami che hanno vegetato normalmente durante tutta la stagione, senza aver subito alcun ingrossamento. Nei rami poi con internodi brevissimi si trovano anche gemme completamente distrutte e altre in parte necrotizzate, specialmente nelle squame periferiche, come se fossero state corrose o comunque danneggiate da qualche minutissimo parassita animale.

Nelle numerose osservazioni che nel breve tempo disponibile ho potuto fare, non mi è stato possibile identificare la causa dell'alterazione, e ciò perchè non ho seguito lo sviluppo delle macchie, avendo osservato la malattia per la prima volta a settembre quando cioè restavano soltanto i segni di una infezione che da circa un mese aveva cessato la sua manifestazione attiva. Nella primavera del prossimo anno cercherò di seguire lo sviluppo delle macchie fin dall'inizio e spero così di poter definitivamente identificare la causa di questa alterazione dalla quale debbono dipendere tutte le altre manifestazioni della malattia.

L'infezione, come ho già detto, è così diffusa e generale che raramente si riscontra una pianta di *Early Elberta* senza la malattia e quindi senza le caratteristiche macchie sui rami. E i diligenti agricoltori della Toscana, i quali non mancano mai di spunti vivaci, chiamano l'*Early Elberta* l'« *Elberta con la mosca* », perchè secondo loro la varietà si distinguerebbe dalle altre *Elberta* principalmente per le macchie ascellari, le quali per la loro forma triangolare sembrano imitare a distanza tante mosche posate sui rami all'ascella delle foglie.

Sul materiale raccolto a settembre in diversi pescheti del Lazio e della Toscana, non ho riscontrato nelle le-



Fig. 6. — Ramo defogliato di pesco *Early Elberta* attaccato dalla malattia del pennacchio con lesioni ascellari estese anche alle gemme della base delle cacciate laterali. ($^{17}/_{20}$ gr. nat.). (Fot. dell'A.; 30 settembre 1931).

sioni ascellari tracce di parassiti fungini, ma soltanto piccoli grumi di gomma ricoperti e invasi da ife vege-

tative e fruttifere di *Cladosporium herbarum* e di altri ifomiceti abitualmente saprofiti. Nella cavità lasciata libera da qualche gemma scomparsa e sotto alcune squame di gemme appena toccate, ho trovato delle uova sferiche di 20-25 μ di diametro, le quali avevano la parete liscia e piuttosto spessa, il contenuto granuloso, e una colorazione giallastra più o meno intensa: alcune addirittura ialine, altre quasi aranciate.

Tali uova sembrano appartenere a qualche acaro. A tale proposito ho riscontrato anche parti di acari morti e alcuni individui morti e vivi di *Tetranychus*, di colore isabellino, molto simili nelle dimensioni e nella forma al *Tetranychus telarius* L.

Questi acari potrebbero trovarsi casualmente nelle gemme alterate, ma quando si pensa che l'infezione ha la sua massima manifestazione nell'estate dal maggio all'agosto, nel periodo cioè corrispondente alla vita attiva degli acari, e quando si pensa anche che gli acari sono responsabili di molte alterazioni accompagnate da un maggiore sviluppo dei tessuti, sembra fin d'ora possibile di ritenere che con molta probabilità la così detta malattia del pennacchio, non sia altro che un'acarosi.

Come è stato riferito più sopra, il Waite [6] ritiene che essa sia dovuta al *Tarsonemus Waitei* Banks [1, 8], ma egli non ha osservato il materiale e ha basato questa sua diagnosi su alcune fotografie di rami malati che gli sono state inviate. Questo acaro è causa di una malattia simile sul pesco, la quale è veramente dannosa nelle piante giovani e da vivaio, mentre in quelle di una certa età difficilmente riesce a produrre danni sensibili; non mi sembra che esso debba ritenersi come causa della malattia del pennacchio per quanto le manifestazioni esteriori venissero in parte a corrispondere.

Nel *Peach bud Mite* degli americani non si hanno lesioni ascellari come quelle della malattia riscontrata in Italia, ma principalmente delle profonde necrosi all'apice dei germogli che il più delle volte avvizzisce. Il ramo

colpito non si accresce più mentre si ingrossa sensibilmente all'estremità, un po' per azione stimolante esercitata dalle punture dell'acaro e un po' per il maggiore afflusso di succhi nutritivi a causa della scomparsa del cono di vegetazione e della cicatrizzazione delle ferite; in seguito, il ramo emette numerosi e brevi rametti laterali, formando un piccolo e folto cespuglio. Al contrario, nella malattia del pennacchio, l'apice rallenta il suo accrescimento ma in genere non viene distrutto, tanto che può riprendere a vegetare normalmente nella stagione propizia. Infine anche per la malattia prodotta dal *Tarsonemus Waitei*, valgono le medesime osservazioni già fatte per la *Phony Disease* a proposito della manifestazione dell'infezione in un'unica varietà, dato che questo acaro attacca peschi diversi e riesce dannoso anche ai peri e ad alcuni susini [6] [8].

Per tutte queste ragioni io ritengo fin d'ora che la malattia riscontrata in Italia sia diversa da quella prodotta dal *Tarsonemus Waitei* a meno che, in una ipotesi quasi inverosimile, non fosse avvenuta una netta variazione nell'azione parassitaria di questa specie.

A me sembra molto probabile che se veramente la malattia è un'acarosi, la causa debba ricercarsi in una specie di acaro diffusissima in Italia, la quale, innocua per le altre varietà di pesco, sarebbe dannosa soltanto all'*Early Elberta* che in confronto delle prime ha i tessuti più teneri e succosi e quindi più adatti per essere punti e corrosi da alcuni acari fitofagi. Tale acaro dovrebbe essere mobilissimo, forse più dei tarsonemidi, e capace di diffondersi facilmente sulle piante, lasciando in ogni ramo e in certe piante in ogni gemma i segni della sua azione dannosa; e non mi meraviglierei se le uova e gli individui di acari da me riscontrati si riferissero a una simile specie cioè a quella che causa la malattia.

Non si può escludere d'altra parte che la presenza degli acari e le lesioni a questi riferibili rappresentino un sem-

plice epifenomeno e che la causa specifica della malattia sia di tutt'altra natura. Le esperienze d'innesto che sa-



Fig. 7. — Aspetto di un ramo di pesco *Early Elberta* attaccato dalla malattia del pennacchio. Circa $^2/_7$ gr. nat. (Fot. dell'A.; 30 settembre 1931).

ranno da me istituite potranno facilmente togliere ogni dubbio circa la possibilità che la *malattia del pennacchio* sia identificabile con la *Phony Disease* o con altra virosi.

Su la manifestazione più o meno accentuata dell'infezione debbono certamente influire la stagione e le condizioni climatiche, ma non sappiamo con precisione quali di queste hanno una maggiore o minore influenza. Sembra che la siccità sia quella che più faccia risentire i suoi effetti, perchè ho potuto osservare in terreni siccitosi piante di pesco completamente sane aventi i rami sensibilmente accorciati e tali da apparire a distanza come affetti dalla *malattia del pennacchio.*

Ottobre 1931 (IX).

M. Curzi.

RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICO.

1. Banks N., *New American mites.* « Proceedings Entomol. Soc. Washington » ; vol. XIV, pp. 96-99, pl. 1-2, fig. 5, 14, 16, 1916.
2. Hutchins L. M., *Peach orchards in Georgia menaced by Phony Disease.* « Jearbook of Agriculture », pp. 499-503, 2 fig., 1927. (Riass. « Rivista Patol. Vegetale » ; XIX, pp. 79-80, 1929).
3. — — *Phony disease of the Peach.* « Phytopath. » ; vol. XIX, 1, p. 107, 1929.
4. — — *The Phony Disease of the Peach.* « Journ. Econ. Entom. »; vol. 23, 3, pp. 555-562., Pl. 18-19, 1930.
5. — — *Une maladie à virus du Pêcher (Phony Peach).* « Revue Path. Veget. d'Ent. Agr. »; t. XVII, 8-9, pp. 383-384, pl. XII et XIII, 1930.
6. Ott A., *Su di una malattia del pesco.* « Note di Frutticoltura » ; Anno VIII, N. 8, pp. 139-146, fig. 15-18, Pistoia, Agosto 1930.
7. *Phony Peach quarantine modified.* « Plant Disease Reporter » ; XIII, 14, pp. 172-172, 1930. (Riass. « Rev. App. Myc. »; vol. IX, p. 416, 1930).
8. Quaintance A. L., *Notes on the Peach bud Mites.* « U. S. Depart. of Agricul., Bureau Entom. » ; Bull. 97, Pt. VI, pp. 103-114, pl. XII-XVI, 1912.
9. *Quarantine on account of the Phony Peach Disease, Notice of Quarantine N. 67.* « U. S. Depart. Agric., Plant. Quarantine » and control Admin. Leaflet, 4 pp., 1929. (Riass. « Rev. Appl. Mycol. » ; VIII, p. 672, 1929).

L'Aut. fot.

10. RACAH V., *Una nuova e strana malattia del pesco.* « Giornale di Agric. della Domenica »; Anno XL, N. 32, p. 415, fig. 4. Piacenza, Agosto 1930.

11. *Report of the Chief of the Bureau of Plant Industry for the fiscal year ended June 30, 1925.* « U. S. Dept. of Agric., Bureau of Plant Industry, Washington D. C. », 36 pp., 1925.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE (1).

TAVOLA IV.

Fig. *A*. — Pescheto di due anni della varietà « Sneed » con una pianta di « Early Elberta », affetta da malattia del pennacchio, la quale si distingue nettamente da tutte le altre per il denso fogliame attorno a ciascuna delle quattro giovani branche.

Fig. *B*. — Filari paralleli di un pescheto di tre anni delle varietà « Early Elberta » a destra e « Victor » a sinistra. Le piante dell' « Early Elberta » sono tutte colpite dalla malattia del pennacchio ad eccezione della prima che si vede a metà e di qualche altra in fondo al filare; le piante della « Victor » sono invece tutte sane e si distinguono appena sul terreno lavorato di fresco.

TAVOLA V.

Fig. *A*. — Filari di tre anni della varietà « Early Elberta », sofferenti da malattia del pennacchio.

Fig. *B*. — Peschi della varietà « Early Elberta » di un pescheto di tre anni, che hanno manifestato la malattia del pennacchio fin dal primo anno dell' impianto.

---

(1) Le quattro fotografie riportate nelle due tavole sono state eseguite nella tenuta Piccirilli presso Roma, nella prima quindicina di settembre, dopo la vangatura del terreno.



Ricerche sulla fisiologia dell'*Helminthosporium gibberosporum* Curzi

Le ricerche sulla fisiologia dei funghi hanno ricevuto solo in quest'ultimo ventennio da parte degli studiosi di Micologia quell'attenzione che già da lungo tempo hanno invece avuto le ricerche morfologiche. Certamente queste ultime hanno una grande importanza, perchè la miglior conoscenza dei caratteri morfologici porta alla più esatta identificazione delle specie e al più razionale raggruppamento di queste nel quadro tassonomico di un dato genere o di una data famiglia; ma non meno importanti devono esser considerati i caratteri fisiologici. Se i primi sono utili per il riconoscimento della specie, cioè per fissare il punto di partenza o meglio la base di qualsiasi ricerca intorno a una data entità specifica, questi ultimi servono a spiegare gran parte dei fenomeni biologici che la specie può manifestare nell'ambiente in cui vive. Alla fisiologia dei funghi restano quindi legati il loro parassitismo, la loro variabilità, e tutto il loro ciclo biologico.

Con la conoscenza dell'eterotallismo dei funghi, delle variazioni brusche (*saltations*) e delle forme parassitarie biologicamente specializzate, gli studi fisiologici su questi organismi hanno ricevuto un nuovo impulso. Sarebbe certo utile che le ricerche sulla fisiologia delle diverse specie fungine si moltiplicassero per raccogliere un abbondante materiale di osservazioni dallo studio comparato delle quali potesse esser tratta qualche conclusione d'indole generale.

Allo scopo di portare un piccolo contributo alle nozioni sulla fisiologia dei funghi parassiti delle piante, ho eseguito alcune ricerche intorno a un ifomicete che causa

una grave malattia della banana nella Somalia italiana, studiato recentemente in questa R. Stazione di Patologia Vegetale, sotto il nome di *Helminthosporium gibberosporum* Curzi [15].

Le ricerche fisiologiche eseguite da me su questo fungo parassita devono essere considerate come dei saggi di orientamento, per stabilire cioè quale delle diverse attività fisiologiche dell'organismo in esame offra un maggior interesse scientifico.

Le esperienze descritte nella presente nota sono state istituite per accertare:

a) L'azione della temperatura sull'accrescimento delle colonie e sulla germinazione delle spore.

b) L'azione della luce sull'accrescimento delle colonie.

c) La resistenza del fungo all'azione dei raggi ultravioletti.

d) L'influenza della reazione del substrato sullo sviluppo.

e) La produzione di acidi o di basi da parte del parassita.

f) La produzione di enzimi.

g) La resistenza delle spore ad alcuni composti organici (glucosidi e loro prodotti di scissione) ed a sali metallici.

h) La variazione del fungo nelle culture.

a) L'azione della temperatura sull'accrescimento dell'Helminthosporium gibberosporum.

Lo studio dell'influenza della temperatura ambientale sull'accrescimento del parassita presenta delle difficoltà, dato che nel laboratorio si possono avere solamente delle temperature costanti, mentre in natura, e specialmente in Somalia, dove l'agente patogeno che ci interessa è stato osservato, le oscillazioni di temperatura, anche nella stessa giornata, sono molto forti. Però lo studio

sperimentale ci permette di precisare i limiti estremi entro i quali il fungo può crescere.

Il terreno da me adoperato era composto di infuso di patate, destrosio 2% e agar 2%. Le colture erano fatte in capsule Petri, e tenute in frigorifero o in termostato elettrico a seconda che si trattava di ottenere temperature basse o alte. L'accrescimento è stato misurato giorno per giorno.

Alla temperatura di 0° il fungo non era cresciuto affatto, però, anche se tenuto nel frigorifero per cinque giorni consecutivi, non aveva perduta la sua facoltà di accrescimento; riportando la coltura alla temperatura ambiente di 28° C. il parassita ha ripreso la sua vitalità. Nei primi giorni il micelio era molto sottile, strisciante e pallido, però più tardi è diventato vigoroso ed ha riacquistato l'aspetto della coltura normale.

A temperatura di 5° C. si è osservato lo stesso comportamento.

A 10° C. il fungo è cresciuto, ma l'accrescimento era molto lento; dopo 6 giorni la colonia un po' pallida e sottile misurava il diametro di 30 mm.

Con l'aumentare della temperatura aumentava anche la rapidità di accrescimento del fungo, fino a raggiungere il massimo alla temperatura di 28° C. A questa temperatura il fungo ha formato una colonia di 75 mm. di diametro in 6 giorni. Aumentando ancora la temperatura la rapidità diminuiva. A 30° C., la colonia misurava 60 mm., a 35° C. 40 mm. di diametro.

Alla temperatura di 37° C. l'accrescimento si è arrestato del tutto. Però, anche in questo caso, come è stato già osservato per le temperature basse, il fungo non ha perduta la sua vitalità e ha ripreso la sua facoltà di accrescimento appena riportato nell'ambiente normale. Al principio l' accrescimento era molto lento e l' aspetto della colonia era misero, il fungo risentiva ancora l'azione nociva della temperatura alta, ma più tardi riacquistava l'aspetto normale. Le culture tenute per più di

10 giorni nel termostato a 37° C. non riprendevano più la loro vitalità.

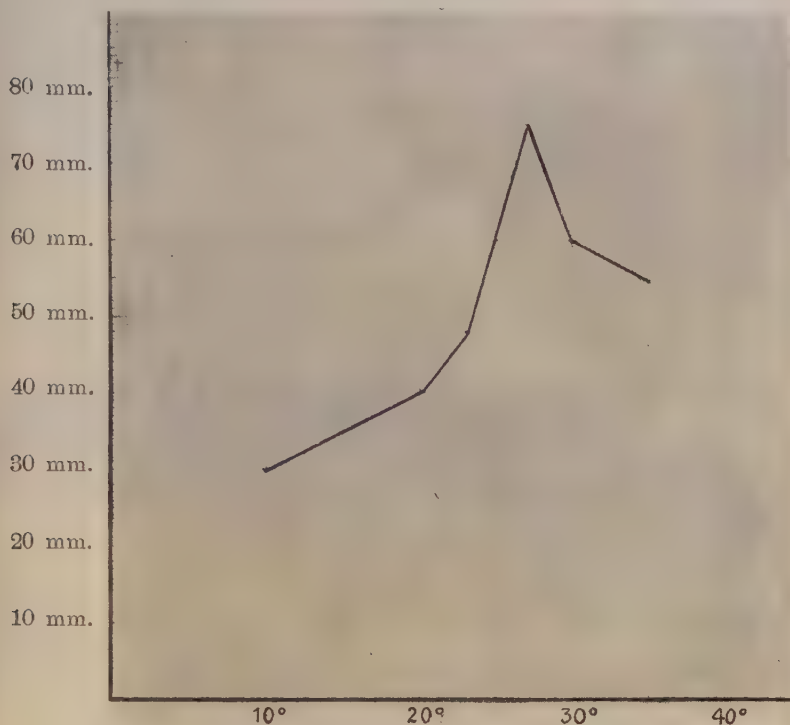


Fig. 1. — Lo sviluppo alle varie temperature di *Helminthosporium gibberosporum*, su decotto di patate glucosato. (Sulle ascisse il diametro delle colonie in millimetri dopo 6 giorni, sulle ordinate le temperature).

La temperatura di 42° C. è letale per il fungo, che perde completamente la sua vitalità anche in un solo giorno di permanenza in termostato.

Dai fatti esposti si può dedurre che per l'accrescimento dell' *Helminthosporium gibberosporum* il *minimum* di temperatura è a 10° C., il *maximum* a 37° C., e l'*optimum* a 28° C.

In genere si osserva che i limiti di temperatura entro i quali cresce un dato parassita corrispondono, o sono un po' meno ampi, a quelli entro i quali cresce bene la pianta ospite. Così McKinney e Davis [1] hanno trovato che l'*Ophiobolus graminis* cresce fra le temperature 4° C. e 33° C.; il suo *optimum* è a 23° C. Il Rathschlag [2] ha trovato che l' *Helminthosporium Avenae* Tidam — stadio conidico della *Pleospora Avenae* Rath. — cresce entro i limiti di temperatura di 59° C. e 33° C. e il suo *optimum* è a 18-24 C.; queste temperature sono anche le più favorevoli per l'accrescimento e lo sviluppo del grano che è la pianta attaccata da tali parassiti. Il nostro *Helminthosporium* cresce meglio a temperature più elevate e questo è in concordanza col fatto che la pianta ospite, dalla quale è stato isolato, è una pianta tropicale, coltivata nella Somalia, dove la temperatura media dell'anno è di 26-28° C.

Influenza delle alte temperature sulla germinazione delle spore. — È noto che molti batteri sono resistentissimi all'azione delle alte temperature; secondo il Cohn [3] le spore del *Bacillus subtilis*, tenute in acqua a temperatura di 100° C. per un'ora, non risentono alcun danno. Più resistenti ancora sono le spore dei batteri terrestri tenuti in ambiente secco, dato che l'acqua favorisce la coagulazione dei costituenti albuminoidi del citoplasma. Secondo Koch e Wotfhügel [4] le spore di certi batteri non perdono la loro vitalità anche se sottoposti per 3 ore alla temperatura di 140° C. La Tsiklinski [5] afferma che il *Thermoactinomyces vulgaris* che cresce sul terreno, immondizie, grano, patate etc., resiste alla temperatura di 100° C. anche per 20 minuti.

In questi ultimi anni le temperature elevate hanno avuto anche delle applicazioni nella disinfezione delle sementi. Lo Stoermer [6] ha tenuto dei semi di orzo e di grano attaccati dal « carbone » in un termostato elettrico a secco alla temperatura di 100° C. per 20 minuti; egli ha cercato in questo modo di eliminare l'infezione,

ma non è riuscito a distruggere completamente i parassiti e i semi messi a germinare hanno dato ancora una percentuale non trascurabile di piante, specialmente di grano, infettate da *Ustilago*.

Nahumov [7] per uccidere tutte le spore e il micelio dei funghi parassiti dei semi di cereali, dovette tenerli nel termostato a secco alla temperatura di 60° C. per ben tre giorni consecutivi.

Recentemente l'Atanasoff [8] ha cercato di distruggere l'*Helminthosporium sativum* P. K. et B., presente nei semi dei cereali, mediante il calore. Ha constatato però che il parassita resiste molto all'azione delle temperature elevate; dai semi tenuti per 15 ore nella stufa elettrica a 100° C. si è avuto ancora l'8% delle piante infette.

Mi è sembrato quindi interessante ricercare se anche l'*Helminthosporium gibberosporum* resista all'azione delle temperature elevate, tanto più che esso è stato trovato nella Somalia, dove la temperatura nei mesi caldi raggiunge e supera i 45° C.

Per sperimentare l'influenza delle alte temperature sul nostro *Helminthosporium* ho preparato delle colture in goccia pendente e le ho messe in termostato a temperatura superiore a 50° C.; data l'alta temperatura, le gocce del liquido si sono presto evaporate, perciò, si può considerare l'esperienza come eseguita col calore secco. Delle gocce di una soluzione di glucosio sono state poi deposte sui vetrini allo scopo di provocare la germinazione delle spore. I preparati sono stati osservati dopo 24 ore. Le spore tenute a 50° C. per 24 ore hanno germinato come il controllo tenuto in ambiente normale.

Delle spore, tenute a temperatura di 65° C. per due ore, solo il 50% ha germinato. Quelle raggruppate hanno resistito di più delle spore isolate.

Delle spore tenute a 70° C. per un'ora il 20% ha germinato. Di quelle tenute a 85°-100° e 105° C. per un'ora, solo il 10% ha germinato, mentre si è osservata un'ab-

bondante sporificazione; i tubi germinativi non avevano l'aspetto normale, perchè erano più torulosi, e contenevano delle gocce oleose di sostanze di riserva. Le spore tenute alla temperatura di 110° C. per un'ora hanno dato il 10% di germinazione con tubi germinativi quasi normali.

Possiamo concludere che le spore di *Helminthosporium gibberosporum*, sono oltremodo resistenti all'azione delle altissime temperature. Sarebbe interessante vedere se le spore tenute a 100° C., germinando, producono delle variazioni, dato che il Barnes [9] ha trovato che le temperature elevate possono facilitare le comparsa di stipiti varianti nella *Botrytis cinerea*. Infatti egli facendo delle culture con conidi tenuti alla temperatura di 66° C. ha ottenuto forme, che differivano dalle normali per la rapidità di accrescimento, per il pigmento e per altri caratteri.

b) Azione della luce e delle varie radiazioni luminose sull'accrescimento.

Parecchi autori hanno studiato l'azione delle varie radiazioni luminose sulla sporificazione e sull'accrescimento dei funghi. Secondo Purwis e Warwick i raggi di grande lunghezza d'onda (rossi) accelerano la formazione di ascospore nei saccaromiceti; i raggi verdi e anche più gli azzurri e i violetti la ritardano. Invece Moreau avrebbe constatato che le radiazioni rosse, aranciate, gialle e verdi ritardano lo sviluppo del micelio e impediscono la formazione dei conidi di *Botrytis cinerea*, mentre i raggi azzurri e violetti accelerano lo sviluppo vegetativo e stimolano la fruttificazione [20].

Allo scopo di accertare se la luce bianca e le varie radiazioni luminose hanno differenti effetti sull'accrescimento dell'*Helminthosporium gibberosporum*, ho preparato delle culture del fungo in capsule Petri e le ho esposte alla luce diffusa, all'oscurità completa e sotto

campane di Senebier riempite di differenti liquidi colorati. I differenti colori sono stati ottenuti per mezzo di soluzioni di sostanze coloranti: rosso cresolo (rosso); violetto di genziana (violetto); bleu di metilene (bleu); orange (arancio); verde di metile (verde) e acido picrico (giallo). Misurando il diametro delle colonie dopo 6 giorni, ho potuto constatare che c'erano delle piccole differenze nella rapidità di accrescimento delle culture tenute sotto le differenti radiazioni alle stesse condizioni di temperatura. I risultati di uno degli esperimenti sono riportati nella tabella 1.

Tabella 1.

Luce adoperata	Diametro medio delle colonie
Luce bianca diffusa	mm. 58
» gialla	» 55
» aranciata	» 55
» rossa	» 40
» verde	» 45
» bleu	» 57
» violetta	» 50
Oscurità	» 45

Dai dati esposti risulta evidente che l'accrescimento è minore alla luce rossa, a quella verde e all'oscurità, mentre è massimo alla luce bianca. Fra le luci colorate risulterebbero più favorevoli all' accrescimento le luci gialla, aranciata e blu. Questi risultati non possono ritenersi definitivi ed occorreranno molte altre esperienze, che io mi prometto di compiere, adoperando luci di determinata lunghezza d'onda. La grande variabilità dell'*Helminthosporium gibberosporum* rende anche più difficile la comparabilità delle colture sviluppatesi sotto luci diverse.

c) **Resistenza del fungo all'azione dei raggi ultravioletti.**

Per studiare la resistenza delle spore all'azione dei raggi ultravioletti, ho preparato una sospensione di spore in acqua, ed ho messo delle gocce di questa sospensione su vetrini portoggetti, che ho posto poi sul piano dell'apparecchio generatore dei raggi, con le gocce volte in alto, a 20 cm. di distanza dalla sorgente luminosa.

I raggi venivano prodotti da una lampada di quarzo a vapori di mercurio della casa Gallois di Lione, a corrente alternata a 110 volts e 5 ampère di assorbimento. Data la piccola distanza che intercorreva tra la sorgente dei raggi e i preparati, questi ultimi si sarebbero riscaldati troppo, e per eliminare tale inconveniente, ho applicato vicino all'apparecchio un ventilatore che, funzionando, impediva l'innalzarsi della temperatura, in modo che anche nelle radiazioni molto prolungate, di due ore e più, la temperatura non oltrepassava i 35° C. Dopo l'irradiazione sono state messe sui vetrini delle gocce di una soluzione all'1% di glucosio. I preparati sono stati tenuti in ambiente umido ed osservati dopo 24 ore.

Le spore di *Helminthosporium gibberosporum* resistono moltissimo all'azione nociva dei raggi (1). Solo dopo 35 minuti d'irradiazione cominciano a sentirne lievemente l'effetto. Il 70% delle spore germinano; però al-

---

(1) I dati suesposti si riferiscono ai risultati ottenuti con la lampada di quarzo a vapori di mercurio che era a mia disposizione, quindi essi offrono un valore relativo. È noto che queste lampade diminuiscono assai notevolmente l'emissione di raggi ultravioletti dopo un certo numero di ore di funzionamento. In un mio prossimo lavoro riferirò sui risultati di esperienze comparative eseguite su spore di funghi diversi ed in relazione a quanto è stato constatato da altri autori.

cune spore hanno tubi germinativi più brevi dei controlli (non irradiati) e sono molto torulosi.

Dopo 65 minuti d'irradiazione germina ancora il 60% delle spore, si osserva qualche caso in cui il tubo germinativo non si forma dai poli della cellula, ma da un lato: questo non avviene mai in condizioni normali.

Dopo 130-180 minuti d'irradiazione il 30% delle spore germina, però molti tubi sono più brevi dei controlli ed hanno un aspetto anormale, perchè torulosi, a setti vicinissimi e contenenti molte gocce di sostanze di riserva e numerosi vacuoli. Molte spore hanno formato appena una cellula che superava di molto la grandezza della spora, gonfia, rotonda con le pareti ispessite.

La germinazione non avviene dunque più normalmente, ma è da notare che c'è ancora una percentuale non trascurabile di spore (10%) che non ha risentito affatto l'azione dannosa dei raggi. Si può forse attribuire la grande resistenza di queste spore alle loro pareti molto spesse e al colore scuro di queste, ma non si può escludere che il loro protoplasma sia dotato di particolari proprietà di resistenza, le quali non sono annullate neanche con un'irradiazione di tre ore consecutive.

Per studiare l'azione dei raggi sulle culture, ho preparato queste ultime in capsule Petri su decotto di patata glucosato ed agarizzato. Subito dopo il trapianto, ho deposto le capsule sul piano dell'apparecchio produttore dei raggi a distanza di 40 cm. dalla lampada. Non ho potuto diminuire la distanza per non confondere l'azione calorifica dei raggi con quella luminosa, dato che non potevo adoperare il ventilatore per non infettare le culture che erano tenute senza coperchio.

Ho potuto constatare che anche se le capsule sono state tenute per 100 minuti sotto l'azione dei raggi ultravioletti, le culture non hanno risentito nessuna azione nociva. Non è stata osservata alcuna differenza tra la rapidità di accrescimento delle colonie irradiate e quelle normali. Questo fatto dimostra che non solo le spore, ma

anche il micelio del fungo in esame ha proprietà fisiche e constituzione chimica speciali, che lo rendono così resistente a un'azione notevolmente prolungata dei raggi ultravioletti.

d) **Influenza della reazione del mezzo sull'accrescimento.**

Per studiare l'effetto delle differenti concentrazioni di idrogenioni sull'accrescimento del parassita, ho preparato del brodo nutritivo (estratto di carne Liebig 3 gr. + peptone 10 gr. + acqua distillata 1000 gr.). Le differenti soluzioni acide o alcaline sono state ottenute aggiungendo al brodo qualche goccia di soluzione di acido citrico o di carbonato sodico. Il valore del pH è stato determinato col metodo colorimetrico di Clark. La scala dei pH adoperati è stata da 2,6 a 10 e i risultati sono stati i seguenti :

pH = 2,6. — Le culture tenute in questa soluzione non sono cresciute affatto.

pH = 3. — Si sono formate numerose colonie a sviluppo lentissimo, tanto che in un mese hanno raggiunto appena il diametro di 15 mm.; le loro ife sono rimaste sterili.

pH = 4. — L'accrescimento è stato molto più rapido che nel caso precedente; in una settimana le colonie formavano già uno strato superficiale, denso, con una abbondante sporificazione. All'esame microscopico il micelio si è dimostrato molto più grosso del normale, toruloso e a setti vicinissimi, tanto da apparire quasi catenulato.

pH = 6. — Le colonie formatesi già dopo 4-5 giorni erano di bellissimo aspetto e di colore grigio, con micelio aereo discretamente abbondante. L'accrescimento delle colonie era molto rapido. Il micelio era spiccatamente toruloso, irregolare e formato da cellule tozze quasi rotonde. Si è osservata una elevata sporificazione.

pH = 6,6. — L'accrescimento era rapido, però meno che nel caso precedente; le colonie erano prima bianche,

poi diventarono grigio-scure. Il micelio aveva l'aspetto normale; le spore non erano formate in grande quantità.

pH = 7,6. — Le colonie erano molto piccole e l'accrescimento lento. In un mese non superarono il diametro di 5 mm. e non sporificarono.

pH = 9. — Il fungo non si è sviluppato affatto.

Dai dati esposti si può concludere che l'*Helminthosporium gibberosporum* cresce meglio nei terreni acidi che negli alcalini. L'acidità maggiore che può sopportare è espressa da pH = 3, e l'alcalinità più grande nella quale il fungo stenta già a crescere è quella espressa da pH = 8,6. L'*optimum* per il suo accrescimento è pH = 6.

I nostri risultati non differiscono molto da quelli trovati dal Davis [10] per l'*Ophiobolus graminis*, che ha il *minimum* di accrescimento a pH = 3, *maximum* a pH = 10 e *optimum* a pH = 5,6-6. Questi risultati confermano la constatazione, fatta per tanti altri funghi parassiti, che essi possono crescere entro limiti abbastanza ampi di differenti concentrazioni idrogenioniche.

e) **Produzione di acidi o di basi da parte del parassita.**

Per stabilire se il fungo in esame produca acidi o basi ho preparato una soluzione nutritiva neutra di glucosio e di asparagina; ho messo il substrato agarizzato in capsule Petri sterilizzate a secco e vi ho aggiunto delle sostanze coloranti della scala colorimetrica di Clark, come l'azzuro di bromo timolo, il rosso fenolo e il porpora di bromo creosolo. Il fungo, crescendo, ha prodotto un evidente cambiamento nel colore del substrato; ho potuto accertare che in tutte le capsule osservate, il valore del pH è sceso dal 7 (neutro) a 6,6 o a 6,4. Questo fatto dimostra che l' *Helminthosporium gibberosporum* crescendo, produce una piccola quantità di acidi. È da notare che dopo 10 giorni dal trapianto, il fungo arrestava quasi completamente il suo sviluppo, probabilmente per l'azione tossica dei coloranti adoperati.

Le colture del fungo sullo stesso liquido nutritivo neutro, senza aggiunta di reattivi nè di agar, hanno dimostrato, dopo 15 giorni di sviluppo, una netta reazione acida, ciò che permette di concludere che l'*Helminthosporium* in esame secerne, come prodotti del proprio metabolismo, dei composti acidi.

f) **Produzione di enzimi.**

Ho fatto delle ricerche per accertare la presenza nelle colture dell'*Helminthosporium* di enzimi proteolitici, dell'amilasi e della pectinasi.

Per mettere in evidenza la presenza di enzimi proteolitici, ho fatto alcune culture nella soluzione di asparagina glucosata, resa neutra con l'aggiunta di alcune gocce di carbonato sodico, e solida mediante l'aggiunta di gelatina. Le culture, dopo un mese, non presentavano traccia di fluidificazione della gelatina.

Allo scopo di accertare se il parassita in esame produce l'amilasi o la pectinasi, ho fatto delle culture rispettivamente su pezzi di patata e su pezzi di carota. Dato che queste culture non potevano essere sterilizzate nell'autoclave, perchè il calore avrebbe alterato la loro composizione chimica, ho proceduto alla confezione asettica dei tasselli con la massima precauzione, per evitare eventuali inquinamenti. Parecchi giorni dopo il trapianto, quando il substrato era coperto di micelio, ho proceduto all'osservazione facendo sezioni nelle parti invase dal fungo. Ho constatato che i granuli di amido delle patate, non davano col ioduro di potassio la colorazione blù, ma la colorazione rossa bruna dell'amilodestrina. Facendo delle sezioni nelle carote invase dal fungo ho constatato che le lamelle mediane delle cellule non erano idrolizzate. Evidentemente l' *Helminthosporium gibberosporum* mostra una debolissima attività enzimatica sopra i substrati colturali. Questi risultati sperimentali negativi non possono far escludere che, in natura, sotto particolari azioni stimolanti, questo fungo sia capace di produrre enzimi specificamente attivi.

g) Resistenza delle spore a diversi composti organici (glucosidi e loro prodotti di scissione) e a sali metallici.

Questo studio ha un interesse teorico e pratico. Sperimentando l'azione di sostanze organiche sul fungo, si può stabilire infatti se le stesse sostanze che si possono trovare in piccole quantità nei tessuti della pianta ospite, possono favorire od ostacolare lo sviluppo del parassita; d'altra parte i risultati dello studio dell'azione dei sali metallici sul parassita ci possono suggerire un mezzo efficace per combatterlo.

Per seguire e controllare la germinazione delle spore nei differenti substrati e a differenti concentrazioni, ho preparato delle culture in gocce pendenti e le ho osservate dopo 6, 12 e 24 ore.

Composti organici:

1. *Glucosidi cianogenetici* (*amigdalina*).

Ho sperimentato prima la soluzione di amigdalina all'1 :100. In tale concentrazione tutte le spore hanno germinato; i tubi germinativi erano più lunghi di quelli delle spore tenute in acqua semplice e spesso essi si formarono alle due estremità della spora. Nella soluzione di 1 :500 ho constatato ancora l'effetto stimolante dell'amigdalina sulla germinazione delle spore. Nella soluzione dell'1 :1000 le spore germinarono come quelle del controllo.

2. *Glucosidi idrochinonici* (*arbutina*).

Anche nell'arbutina diluita a 1 :100 ed a 1 :500 le spore hanno germinato meglio che nell'acqua semplice; qualche volta il micelio aveva i setti tanto vicini da apparire catenulato. Nella soluzione di 1 :1000 l'accrescimento era normale.

3. *Glucosidi salicilici* (*salicina*).

Le concentrazioni sperimentate furono ancora 1 :100, 1 :500 e 1 :1000 e il comportamento delle spore analogo ai precedenti.

4. *Glucosidi cumarinici* (*esculina*).

Nella soluzione di 1 :100, nessuna spora ha germinato. Tanto nella soluzione 1 :500 come in quella di 1 :1000 tutte le spore hanno germinato e la lunghezza dei loro tubi germinativi era eguale a quella dei controlli.

5. *Glucosidi floroglucinici* (*esperidina*).

Anche in questo caso le spore tenute nella soluzione di 1 :100 non hanno germinato affatto, mentre quelle messe a germinare nelle soluzioni 1 :500 e 1 :1000 hanno germinato come i controlli e qualche volta lo hanno anche superato. Quasi sempre la germinazione è avvenuta da tutti e due i poli della spora.

6. *Glucosidi indolici* (*indicano*).

In tutte e tre le diluizioni dell'indicano, cioè nelle soluzioni 1 :100, 1 :500 e 1 :1000, le spore hanno germinato come i controlli.

7. *Salicilato di metile.*

Le spore tenute nel salicilato di metile, tanto nella soluzione di 1 :100 come in quella di 1 :500 hanno risentito un evidente effetto stimolante; nella soluzione molto diluita di 1 :1000 le spore hanno germinato come i controlli.

8. *Acido gallico.*

Le spore tenute nella soluzione di 1 :100 non hanno germinato affatto. Anche nella soluzione di 1 :500 le spore hanno risentito l'effetto nocivo della sostanza e solo il 50% delle spore ha germinato. Lo stesso si è verificato nella soluzione di 1 :1000; in questo caso i tubi germinativi rimasero sempre più brevi dei normali. Solo nella soluzione di 1 :5000 le spore sono cresciute come nei controlli.

9. *Acido acetico.*

Le spore tenute nella soluzione 1 :100 non hanno germinato. Nella soluzione 1 :500 ha germinato il 50% ; la lunghezza dei tubi germinativi era normale. Le spore tenute nella soluzione 1 :1000 hanno germinato come i controlli.

10. *Tannino.*

Le spore messe a germinare nella soluzione 1 :100 non hanno emesso dei tubi germinativi. Quelle tenute nelle soluzioni 1 :500 e 1 :1000 hanno germinato come i controlli.

TABELLA 2. — **L'effetto di differenti composti organici sulla germinazione delle spore di** ***Helminthosporium gibberosporum.***

Composti organici	Concentrazione delle soluzioni			
	1:100	1:500	1:1000	1:5000
Amigdalina	+	+	=	=
Arbutina	+	+	=	=
Salicina	+	+	=	=
Acido salicilico	+	+	=	=
Esperidina	0	+	=	=
Esculina.	0	=	=	=
Acido gallico	0	50 % —	50 % —	=
Indicano.	=	=	=	=
Acido acetico	0	50 % =	=	=
Tannino.	0	=	=	=

(1) Il segno + indica che la lunghezza dei tubi germinativi è più grande che nei controlli.

(2) Il segno = indica che la lunghezza dei tubi germinativi è uguale a quella dei controlli.

(3) Il segno — indica che la lunghezza dei tubi è più piccola che nei controlli.

(4) Il segno 0 indica che nessuna delle spore ha germinato.

SALI METALLICI:

1. *Solfato di rame.*

Questo sale metallico ha dimostrato di essere assai tossico per le spore in esame.

Mentre la soluzione 1:10.000 impediva ancora la germinazione, nella soluzione oltremodo diluita 1:50.000, tanto il numero delle spore germinate che la lunghezza dei loro tubi germinativi erano normali.

2. *Solfato di ferro.*

Nella soluzione di 1:1000 nessuna spora ha germinato, mentre in quella di 1:5000 e in quella di 1:10.000 ha germinato l'80% delle spore e i tubi germinativi erano di grandezza normale. Le spore tenute nel solfato di ferro all'1:50.000 hanno germinato tutte.

3. *Solfato di nickel.*

Nella soluzione di 1:1000 nessuna spora ha germinato. In quelle all'1:5000 ne germinarono solo il 10%, e in quella all'1:10.000 il 50% delle spore ha emesso dei tubi germinativi ma più brevi dei normali. Nella soluzione di 1:50.000 tutte le spore hanno germinato come i controlli.

4. *Solfato di alluminio.*

Non ha nessun effetto nocivo sulla germinazione delle spore in esame, e già nella soluzione di 1:1000 tutte le spore germinarono con tubi di lunghezza e di aspetto normale.

5. *Solfato di zinco.*

Anche il solfato di zinco si è dimostrato innocuo per le spore del parassita che ci interessa. Tutte le spore tenute nella soluzione di 1:1000 hanno germinato come i controlli.

6. *Acetato di piombo.*

La soluzione di 1 :1000 è letale per le spore. Nella soluzione di 1 :5000 il 30% delle spore germinarono e nella soluzione di 1 :10.000 germinarono tutte come i controlli.

Dai dati esposti si può dedurre quanto segue: quasi tutte le sostanze organiche sperimentate sono innocue per le spore di *Helminthosporium gibberosporum*. Di più nelle soluzioni concentrate di amigdalina, arbutina, salicina ed acido salicilico le spore risentono una azione stimolante e superano i controlli tenuti in acqua semplice. Nelle soluzioni concentrate di esperidina ed esculina le spore non germinano affatto, mentre si comportano come se fossero in acqua, quando le concentrazioni delle suddette sostanze sono meno forti. Il tannino, l'acido acetico e l'acido gallico hanno un effetto nocivo sulla germinazione delle spore. Il primo diventa completamente innocuo alla concentrazione di 1 :500, il secondo a 1 :1000 e il terzo, che è il più nocivo, alla concentrazione molto diluita di 1 :5000.

È da notare che questi ultimi composti si trovano in piccola quantità nel frutto e nelle foglie delle banane[11]; ma la quantità è tanto piccola che non può impedire la germinazione delle spore.

Dei sali metallici solo il solfato di alluminio e il solfato di zinco non esercitano alcuna azione dannosa sulla germinazione delle spore. Tutti gli altri sali sperimentati hanno un effetto nocivo sulle spore; diventano innocui solo alla diluizione di 1 :50.000. Fra i sali metallici sperimentati quello più efficace, come anticrittogamico, è il solfato di rame.

Le spore tenute in soluzioni di sali metallici ritardano sempre la germinazione; mentre nelle soluzioni dei composti organici le spore germinano già dopo 6 ore, in quelle dei sali metallici emettono dei tubi germinativi solo dopo 10 ore.

h) **Variazione dell' " Helminthosporium gibberosporum ,,.**

Facendo delle colture monosporiche su agar sintetico composto di : acqua distillata 1000 cmc., fosfato acido di potassio 1 gr., solfato di magnesio 1 gr., asparagina



Fig. 2. — Coltura di *Helminthosporium gibberosporum*, su agar sintetico con diverse variazioni settoriali.

1,50 gr., glucosio 30 gr. e agar-agar 20 gr. [16], ho potuto constatare in differenti colture alcuni evidenti settori prominenti e depressi (fig. 2, 3). Coltivando i settori in nuove capsule Petri sullo stesso terreno ho ottenuto tre stipiti distinti che differivano molto uno dall'altro, e che ho indicato con le lettere rispettive di *A*, *B* e *C*.

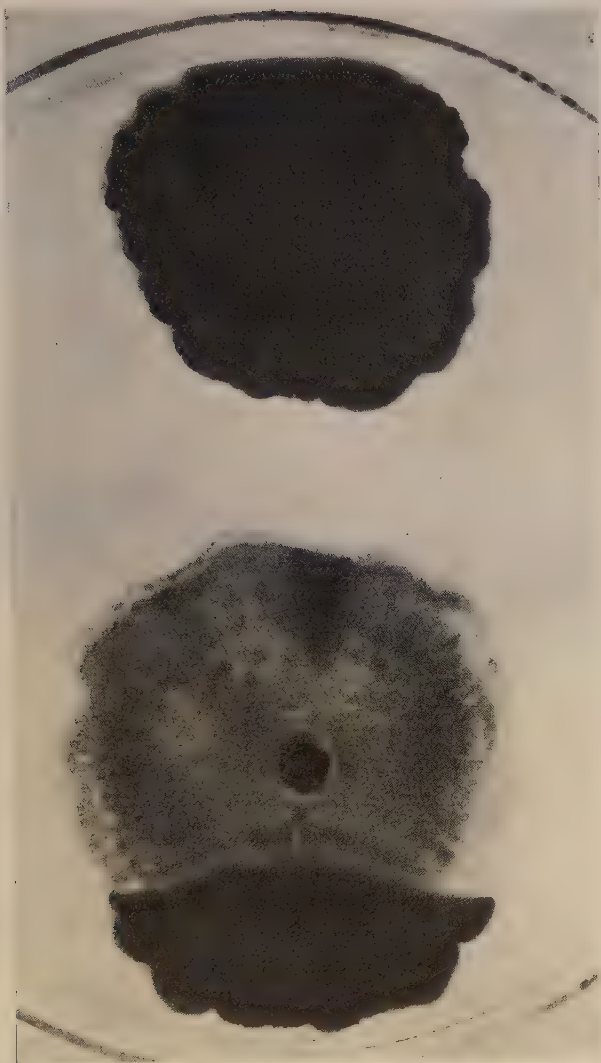


Fig. 3. — Due colonie di *Helminthosporium gibberosporum* su la medesima piastra all'agar sintetico. La superiore, uniforme, corrisponde allo stipite originale (A); l'inferiore allo stipite variante (B). Quest'ultima presenta però due variazioni di A.

A (plumbeo). — La coltura è di colore scuro, il micelio aereo non molto abbondante, denso. Le colonie hanno l'aspetto vellutato, con contorno sottile, più chiaro e molto ondulato. Le zone concentriche sono ben evidenti e la sporificazione è molto rapida ed abbondante.

B (chiaro). — Il colore delle colonie è grigio molto chiaro, qualche volta è addirittura bianco niveo. Micelio aereo relativamente molto sviluppato, elevato, meno denso che nell'*A*, vellutato ma meno compatto. Contorno con zona periferica molto bianca e spesso anche con zona di micelio sommerso e strisciante. Il contorno non è ondulato oppure ha una leggerissima ondulazione ma sempre meno dell'*A*. La divisione in zone non è sempre marcata. Il micelio è sterile.

C (giallastro). — La coltura produce un pigmento giallo-ruggine che colora intensamente il substrato sottostante. Il pigmento si manifesta solo dopo qualche giorno dal trapianto specialmente nella zona periferica. La zona centrale della coltura è grigio verde, priva o quasi di micelio aereo mentre la zona periferica ha un colore bianchissimo ed è formata da un micelio lasso, sommerso. La zonazione è marcatissima più che negli stipiti precedenti. Il micelio produce delle spore, ma sempre in quantità minore che nel tipo *A*, e la formazione avviene anche più in ritardo.

I tre stipiti descritti hanno mantenuto per tutte le generazioni successive (7 fin'ora) le loro caratteristiche. Anche cambiando substrati come vedremo nel capitolo seguente non hanno perduto i loro caratteri specifici. Non mi soffermo a parlare delle differenze morfologiche che ho constatato, e cioè dei differenti aspetti che hanno le spore ed i miceli e neanche delle modificazioni fluttuanti che avvengono in questi stipiti: tali argomenti formeranno oggetto di un mio lavoro sulle variazioni di questa specie di *Helminthosporium*.

Azione dei differenti substrati sull'accrescimento.

Ho adoperato differenti substrati solidi e liquidi, ho ripetuto su ogni substrato l'esperimento sui tre stipiti differenti. Ecco i risultati delle mie osservazioni dopo nove giorni dal trapianto.

SUBSTRATI SOLIDI :

1. Decotto di carote agarizzato (acidità naturale).

A) La colonia ha l'aspetto caratteristico di questo stipite, è di colore grigio plumbeo, la zona periferica è bianca strisciante; ben evidente è la zonatura e abbondante la sporulazione.

B) La colonia ha un micelio aereo grigio chiaro ben sviluppato, nella zona centrale c'è una depressione con una grande quantità di spore, probabilmente si tratta della differenziazione di un nuovo stipite.

C) La coltura ha l'aspetto molto caratteristico dello stipite, è verde al centro e bianca, molto sottile alla periferia. In questa zona è anche molto evidente il pigmento giallo.

2. Decotto di patate glucosato e agarizzato.

A) La colonia ha colore grigio plumbeo nella zona centrale e un micelio bianco strisciante alla periferia. Nella zona di contatto tra il micelio e la capsula c'è una striscia nera ove la fruttificazione è più abbondante; il suo diametro è di 70 mm.

B) Colonia bianca, compatta; micelio aereo molto sviluppato, sterile. La colonia misura 73 mm. di diametro.

C) Tutta la colonia ha un colore grigio tendente però al giallo, e alla periferia c'è una zona bianca di micelio sommerso. Il substrato sottostante è fortemente colorato in giallo. Il diametro della colonia è di 72 mm.

3. Terreno composto di: glucosio 2% + asparagina 0,5% + fosfato bipotassico 0,05% + nitrato di calcio 0,02% + 2% di agar-agar.

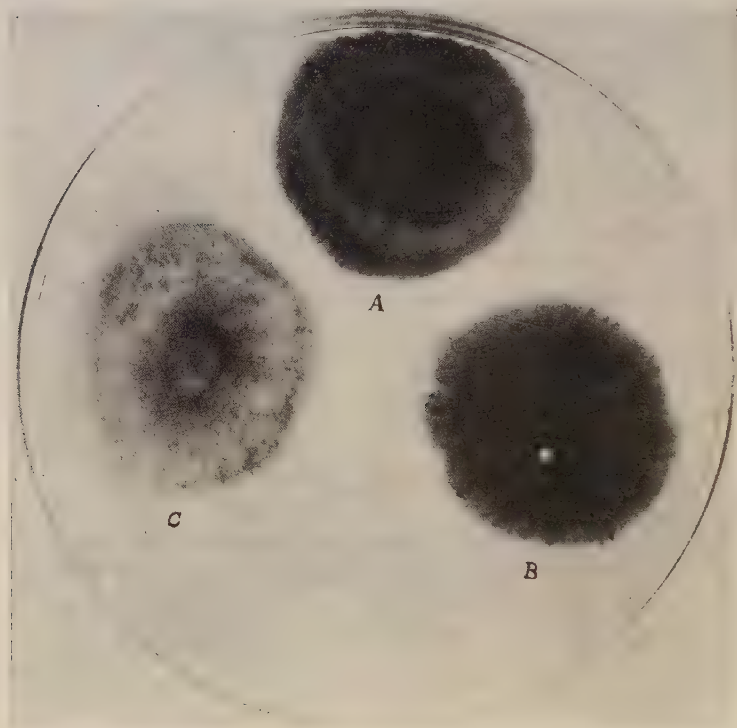


Fig. 4. — I tre stipiti A, B e C di *Helminthosporium gibberosporum* su agar sintetico.

A) La colonia ha il colore grigio plumbeo caratteristico. Intorno al punto di trapianto c'è una zona anulare scura data da una abbondante formazione di spore. La zona periferica è formata di un micelio bianco strisciante. Il diametro della colonia è di 70 mm.

B) La colonia è bianca, al centro è molto compatta e c'è un abbondante sviluppo di micelio aereo. Alla peri-

feria il micelio è sottile e strisciante. La colonia misura 68 mm. di diametro.

C) L'aspetto della colonia è molto caratteristico perchè formata di zone alternate più o meno scure. Il micelio aereo non è affatto sviluppato e la zona periferica è colorata in giallo dall'abbondante pigmento. La cultura misura 65 mm. di diametro.

4. Coltura su pezzi di carota.

A) Micelio scurissimo, poco o niente aereo, molto compatto, sporificazione abbondante.

B) Micelio aereo bianco molto abbondante, sterile.

C) Micelio scuro, compatto; è difficile notare il pigmento giallo forse perchè si confonde col colore del substrato.

5) Colture su pezzi di patate.

Le culture dei tre stipiti hanno dimostrato le stesse caratteristiche delle culture descritte nel caso precedente.

6. Soluzione all'1% di asparagina agarizzata.

A) Micelio sottilissimo strisciante di colore molto scuro, con abbondantissima sporificazione. Il diametro della colonia è di 75 mm.

B) Micelio zonato, grigio, quello aereo poco sviluppato ma sempre più che nell'*A*; la colonia è di 80 mm.

C) Micelio sommerso scuro, con evidente pigmento giallo che colora fortemente il substrato. La coltura misura 80 mm.

7. Soluzione composta di: amido 0,5% + fosfato bipotassico 0,02% + nitrato di calcio + peptone 0,02% + agar-agar 2%.

A) La colonia ha un colore bianco rossastro, è priva di micelio aereo, strisciante e di aspetto grinzoso. Sporifica.

B) Colonia bianchissima, molto densa; micelio aereo ben evidente, sterile. La colonia ha il diametro di 50 mm.

C) Il colore della coltura è grigio verde, il micelio aereo è poco sviluppato. Si nota bene la zonazione ed il pigmento giallo caratteristico di questo stipite. La colonia misura 50 mm.

8. Decotto di patate.

A) L'aspetto della colonia è molto caratteristico perchè al centro si è formato un ciuffo molto rado di micelio aereo, di colore grigio plumbeo. Alla periferia si nota la solita zona bianca strisciante. La colonia misura 60 mm. di diametro.

B) La colonia è di colore bianco candido, è compatta, il micelio aereo è ben sviluppato. Il diametro della colonia è di 65 mm.

C) Il colore della colonia è grigio scuro, il micelio aereo è molto lasso, rassomiglia al tipo *A*, però la zona periferica è bianca e colorata un po' in giallo dal solito pigmento.

9. Soluzione di Duhnam agarizzata: peptone 1 gr. + cloruro sodico 0,5 gr. + agar 1,5 gr. + acqua distillata 100 gr.

A) Micelio sottilissimo strisciante, grigio scuro, quasi invisibile. Il colore del substrato sottostante è bruno scuro. La colonia misura 50 mm.

B) Al centro della colonia il micelio aereo bianco è ben sviluppato, alla periferia c'è una zona di micelio sommerso. La cultura ha 50 mm. di diametro.

C) Il micelio è di colore grigio, molto sottile. Il substrato è colorato dal pigmento giallo. Il diametro della colonia è di 50 mm.

10. Substrato composto di: asparagina 0,5% + glucosio, agar-agar 2%.

A) Micelio strisciante molto sottile, scuro al centro, chiaro alla periferia, misura 65 mm. di diametro.

B) Micelio più chiaro del precedente. Al centro c'è un po' di micelio aereo sterile. La colonia è di 70 mm. di diametro.

C) Micelio sottilissimo molto lasso, scuro al centro, chiaro alla periferia. Il pigmento giallo è molto evidente. Il diametro della cultura è di 75 mm.

11. Substrato di Richards, composto di saccarosio 50 gr. + nitrato di potassio 3 gr. + fosfato bipotassico 5 gr. + solfato di magnesio 2,5 gr. + tracce di cloruro di ferro + acqua distillata 1000 cm.

A) Colonia di colore grigio plumbeo, micelio strisciante, sottile, lasso, zona periferica bianca. Diametro della colonia 55 mm.

B) Micelio aereo ben sviluppato bianco grigiastro, zona periferica sottile sommersa.

C) Micelio scuro molto sottile, alla periferia più chiaro. Il substrato è fortemente colorato in giallo. La colonia misura 55 mm.

12. Substrato di Dox.

Nessuno dei tre stipiti si è sviluppato.

Dalle descrizioni fatte vediamo chiaramente che l'*Helminthosporium gibberosporum* è molto variabile: su i differenti substrati acquista aspetti differenti, però con-

serva sempre le caratteristiche dei suoi tre stipiti distinti. Le oscillazioni che osserviamo nella rapidità di accrescimento degli stipiti non sono molto grandi. I terreni che si sono dimostrati più adatti per l'accrescimento del nostro fungo sono: decotto di carote agarizzato, decotto di patate, decotto di patate glucosato, l'agàr sintetico del numero 3 e quello descritto nel capitolo precedente sulle variazioni. Questi due ultimi sono terreni che favoriscono molto la formazione dei settori.

COLTURA SU SUBSTRATI LIQUIDI:

I substrati liquidi si sono dimostrati meno adatti per l'accrescimento del nostro fungo. Lo sviluppo delle colture è molto lento, e non si distinguono bene i caratteri specifici di ogni stipite. Le descrizioni qui esposte riguardano le culture di 15 giorni.

13. Soluzione di Duhnam.

A) Piccole colonie di 10 mm. di diametro, scure al centro, chiare alla periferia.

B) Colonie di 15 mm. di diametro, molto chiare. Tanto in questo caso come nel precedente il colore della soluzione non è alterato.

C) Colonia ben sviluppata, misura 30 mm. di diametro, di colore scuro. Il liquido nutriente ha il colore molto cambiato, dal giallo è diventato bruno scuro; forse è l'effetto del pigmento giallo caratteristico di questo stipite che in questo caso è invisibile.

14. Soluzione di asparagina 0,5% + glucosio 2%.

A) Colonie di 20 mm. di diametro, molto scure.

B) Colonie con ciuffi aerei più abbondanti che nel caso precedente: il colore delle colonie è più chiaro.

C) Colonie di 20 mm. di diametro; il substrato è colorato fortemente in giallo.

15. Soluzione di asparagina all'1%.

Tutti e tre gli stipiti hanno lo stesso aspetto e la stessa grandezza. Le colonie sono grigie di 30 mm. di diametro.

Queste prime ricerche sul comportarsi dell'*Helminthosporium gibberosporum* in coltura dimostrano che questa specie è molto variabile, ma una simile caratteristica sembra esser comune a tutti i rappresentanti del genere, giacchè in più *Helminthosporium* è stato notato un elevato grado di variabilità, il quale è stato illustrato da diversi autori come Stevens, Christensen, Isenbeck ed altri.

Lo Stevens [21] ha trovato per primo nel genere *Helminthosporium* molte variazioni spontanee, poco divergenti dal tipo originario, attribuibili a fattori interni, ereditarie vegetativamente, stimolate e favorite da condizioni dell'ambiente, e le ha chiamate variazioni a salti (saltations). Queste variazioni apparivano nelle colture originali sotto forma di settori. Le colture derivate dai diversi settori differivano tra di loro per la rapidità di accrescimento, produzione dei conidi, densità, colore e zonazione del micelio, e formazione di sclerozi. L'A. ha studiato ben 126 settori varianti, molti di questi hanno conservato sempre le loro caratteristiche.

Il Christensen [12] ha studiato dettagliatamente 37 forme fisiologiche di *Helminthosporium sativum;* le forme differivano tra loro per i caratteri seguenti: la rapidità di accrescimento, il relativo sviluppo del micelio sommerso e aereo, la natura del micelio, la zonazione, la produzione di conidi, il colore del micelio e la prontezza con la quale le forme mutano. È interessante notare che tali forme hanno anche dimostrato di possedere un grado di virulenza diverso.

Isenbeck [13] studiando l' *Helminthosporium gramineum*, su terreni artificiali, ha potuto identificare al-

meno tre razze fisiologiche, che differivano tra loro, per l'aspetto della coltura, per il colore e per la formazione di anelli colorati (rossi, verdi o rossi-bruni). Le differenti forme si differenziavano anche per la loro patogenità. È da notare che le razze provenivano da luoghi diversi: uno da Stettino, l'altro da una altra parte della Germania e il terzo dalla California.

Accertato dalle presenti ricerche il fatto dell'originarsi di stipiti varianti nelle colture dell'*Helminthosporium gibberosporum*, sarà oggetto di mie ulteriori ricerche lo stabilire quali condizioni esterne favoriscono od ostacolano una simile forma di variazione e secondo quali leggi eventualmente essa si presenta.

Sommario.

Le ricerche fisiologiche fatte sull'*Helminthosporium gibberosporum* Curzi, si possono riassumere così:

1. — Il *minimum* di temperatura alla quale il fungo cresce è di 10° C., l'*optimum* di 28° C. ed il *maximum* di 37° C. Le sue spore sono molto resistenti al calore: per un'ora sopportano anche la temperatura di 110° C.

2. — La luce accelera un po' il suo accrescimento.

3. — Tanto le spore che il micelio sono molto resistenti all'azione dei raggi ultravioletti; resistono rispettivamente a 3 ore e a 1 ora e mezza di irradiazione.

4. — I limiti delle concentrazioni di idrogenioni entro i quali può crescere sono: pH = 3, pH = 8,6. L'*optimum* è a pH = 6.

5. — Durante il suo sviluppo il fungo produce una piccola quantità di acidi.

6. — Il fungo non produce enzimi proteolitici; solo piccole quantità di amilasi, ma non pectinasi.

7. — Le sostanze organiche da me sperimentate sono innocue oppure hanno un'azione stimolante sulla germinazione delle sue spore. L'unico composto organico

che impedisce la germinazione nella concentrazione 1:1000 è l'acido gallico.

Di tutti i sali metallici sperimentati solo il solfato di zinco e il solfato di alluminio sono innocui per il fungo, gli altri sono molto dannosi: il più tossico è il solfato di rame, che diventa innocuo solo alla concentrazione di 1:50.000.

8. — La specie è molto variabile; ho potuto separare tre stipiti: *A* (plumbeo) con scarso micelio aereo e con sporificazione precoce e abbondante; *B* (bianco-grigio) con micelio aereo bianco o bianco-grigio, molto sviluppato e generalmente sterile; e *C* (giallastro): forma colonie scure molto zonate, con un pigmento giallo diffusibile nel substrato e visibile specialmente alla periferia della colonia; il micelio aereo è per lo più quasi assente.

I tre stipiti si conservano distinti in tutti i terreni solidi e liquidi sperimentati.

D. RABINOVITZ SERENI.

Roma. — R. Stazione di Patologia Vegetale
Settembre 1931.

BIBLIOGRAFIA.

1. MCKINNEY H. H. e DAVIS R. G., *Influence of soil temperature and moisture on infection of young wheat plants by Ophiobolus graminis.* « Journ. of Agric. Res. » XXI, 1925.

2. RATHSCLAG H., *Studien ueber Helminthosporium avenae.* « Phytopathologische Zeitschrift. » II, 1930.

3. COHN F., *Beitr. z. Biol. d. Pflanzen.* 1877.

4. KOCH A., « Bot. Zeitg. » 1888 Bd. 46.

5. TSIKLINSKI, « Ann. Pasteur » 1899 bd. 46.

6. STOERMER, *Die in der Provinz in Sommer 1908 beobachteten Krankheiten am Getreide.* « Landw. Wochenschr. Sachsen Jahrg. 10, n. 35.

7. Nahumov N. A., *Intoxicating bread. observations on several Fusarium species.* « Review by Shapolov M. in Phytopathology » 7, 1017.

8. Atanasoff D., *Treatment of cereals seeds by dry heat.* « Journ. of. Agric. Res. » XVIII, 1920.

9. Barnes B., *Variations in Botrytis cinerea, induced by the action of high temperatures.* « Ann. of. Botany » 176, 1930.

10. Davis R. G., *Studies on the Ophiobolus graminis Sacc. and the take-all disease of wheat.* « Journ. of. Agric. Res. » XXXI, 1925.

11. Wehemer C., *Die Pflanzenstoffe.* 1, 1929. P. 174.

12. Christensen J. J., *Physiologic specialisation and mutation in Helminthosporium sativum.* « Phytopathology » 15, 1925.

13. Isenbeck K., *Untersuchungen über Helminthosporium, gramineum Rabh. im Rahmen der Immunitaetszuchtung.* « Phytopathologische Zeitschrift. » II. 1930.

14. Petri L., *Le variazioni a salti (saltations) dei microrganismi ed il loro significato biologico.* « Atti del Congresso nazionale di microbiologia », 1930.

15. Curzi M., *Una nuova specie di « Helminthosporium » in una malattia del banano segnalata nella Somalia italiana.* « Atti Rend. Acc. Naz. Lincei », 1931.

16. — — *Ricerche morfologiche e sperimentali su un micromicete termofilo.* « Bollettino R. Staz. Pat. Veg. », 1930.

17. Johnson Th., *Studies on the pathogenecity and physiology of Helminthosporium gramineum Rabh.* « Phytopathology » 15, 1925.

18. Kirby R. R., *The take-all disease of cereals and grasses.* « Phytopathology », 12.

19. — — *Hetherothalism in Ophiobolus cariceti.* «Phytopathology », 13.

20. Stevens F. L., *The* Helminthosporium *foot-rot of Wheat with observations an the morphology of* Helminthosporium *and on the occurence of saltations in the genus.* « Dept. Regist. and. Educ. Div. Nat. Hist. » Survey, Illinois, XIV, 1922, p. 78.

La coltivazione del Castagno giapponese in Italia

L'applicazione del metodo Gandolfo per la cura dei castagni colpiti dal *mal dell'inchiostro* è ancora troppo recente per trarne fondate speranze sulla possibilità di salvare dalla distruzione i castagneti che già sono attaccati dalla malattia o che lo saranno in un tempo più o meno lontano. Nel dubbio che un simile metodo di cura non riesca efficace in tutti i casi o che le piante guarite in un primo tempo possano poi soccombere in successivi attacchi del parassita, è prudente cercare di prepararci a sostituire gradatamente il nostro castagno con una specie esotica, resistente alla malattia e che d'altra parte sia capace di produrre frutti equivalenti o quasi a quelli della *Castanea sativa* o che possa servire di portinnesto per le nostre varietà più pregiate.

È ben noto che le ricerche fatte a un tal riguardo in Francia hanno dimostrato che la *Castanea crenata* Sieb. et Zucc. del Giappone può costituire la specie resistente ricercata, sia che la si voglia adoperare come portinnesto, sia come produttore diretto. Esistono infatti del castagno giapponese delle varietà a frutto grosso (1), quanto e anche più dei marroni di Cuneo, che potrebbero costituire boschi per la produzione del frutto, mentre per i cedui potrebbero venire adoperate altre varietà con legno assai più compatto di quello del castagno nostrale.

Nei riguardi dell'uso del castagno giapponese come portainnesto non si hanno sino ad ora sicuri elementi di giudizio. In Francia (Macaye - Bassi Pirenei) ho potuto osservare nel 1925 un innesto di varietà locale su piede giapponese ottimamente riuscito. Data però la maggior

(1) Castagne giapponesi della varietà *Tamba,* importate dal Giappone nel 1929, pesavano sino a gr. 34 ciascuna.

lentezza di accrescimento della *Castanea crenata* nel nostro clima, in confronto del castagno nostrale, e data la



Fig. 1. — Una pianta di Castagno giapponese posta a dimora, a un anno di età, sul Monte Rosso (Pallanza) nel marzo del 1926. Fotografia eseguita il giorno 11 ottobre 1931.

suscettibilità del primo per gli effetti dei freddi tardivi precoci, con conseguente necrosi del cambio, spesso letali, l'innesto dovrebbe esser fatto sempre dopo che il castagno

giapponese avesse superato il primo periodo di sviluppo e cioè dopo il settimo o ottavo anno di età, quando cioè la pianta è diventata molto più resistente agli effetti degli abbassamenti di temperatura primaverili o autunnali. Ad evitare un simile inconveniente sarebbe da sperimentare l'innesto delle piantine di uno o due anni eseguito in vivaio e poco al disopra del colletto. Naturalmente una pratica cosiffatta potrebbe solo applicarsi in regioni immuni dal *mal dell'inchiostro,* giacchè altrimenti la ferita dell'innesto, trovantesi a livello del terreno, costituirebbe una facile entrata del parassita. Solo dopo compiutasi la saldatura dei tessuti e cioè dopo un altro anno di allevamento in vivaio le piantine potrebbero essere poste a dimora in zone infette. Questo innesto così basso, che permetterebbe di costituire tutta la parte aerea della pianta con varietà nostrali, determinerebbe forse anche un più rapido accrescimento ed eviterebbe ogni inconveniente dovuto a una precoce attività del cambio che si verifica nel castagno giapponese e che è la causa principale dei danni per freddi tardivi risentiti da questa pianta nel nostro clima.

Una sperimentazione al riguardo potrà formare oggetto di particolare attenzione da parte dei nostri tecnici forestali non appena potranno avere la possibilità di disporre di un gran numero di piantine di castagno giapponese in diverse regioni del nostro paese. Quest'ultima condizione è anzi indispensabile per sperimentare su larga scala la *Castanea crenata.* Ma, come è facilmente comprensibile, non si possono importare dal Giappone ogni anno ingenti quantità di castagne, sia per ragioni economiche (1), sia per ragioni fitosanitarie, per cui si

---

(1) Un quintale di castagne giapponesi viene a costare, compreso l'imballaggio, il trasporto e le operazioni di disinfezione, L. 1200 circa. Data però la facile perdita della facoltà germinativa, e il deterioramento dei semi per fermentazione e processi di marciume, solo il 50 o 60 % delle castagne importate danno origine a piantine.

rende necessario eseguire numerosi impianti di castagno giapponese nelle località più adatte dell'Appennino e delle Prealpi allo scopo di produrre fra alcuni anni in casa nostra il seme occorrente ai futuri semenzai di *Castanea crenata.*

Questo programma, già da me formulato da alcuni anni, ebbe un principio di attuazione nel 1924 con impianti a dimora eseguiti sull'Appennino Ligure, in provincia di Cuneo e in quella di Firenze, per citare i tentativi più importanti. Alcuni di questi impianti fallirono per il deperimento e la morte delle piantine poste a dimora. Si deve riconoscere che ciò avvenne in gran parte per deficienza di cure e di sorveglianza ed in parte per il clima avverso. In Francia i castagni giapponesi, coltivati per la produzione del frutto, vegetano in ottimi terreni adatti all'impianto di frutteti e si trovano sotto la continua sorveglianza di abili coltivatori che ne curano la protezione contro il bestiame, la vegetazione spontanea e le malattie, ottenendo in 8 o 10 anni delle piante vigorosamente sviluppate e con una produzione relativamente abbondante. Il prezzo con cui le castagne giapponesi sono acquistate, tanto in Francia che all'estero, rende molto redditizia una simile coltura. Come ho già fatto notare in una mia precedente pubblicazione (1), la meravigliosa rapidità di sviluppo che la *Castanea crenata* presenta in alcune località dei Bassi Pirenei si deve, oltre che alle cure prodigatele, anche alle particolari condizioni del clima oceanico, condizioni che certamente non si trovano nel nostro paese. Ho però avuto sempre la convinzione che anche sulle colline e sui monti che circondano i nostri laghi della zona prealpina il castagno giapponese debba trovare ottime condizioni di vegetazione. È quanto del resto mi ha confermato una recente

(1) Petri L., *Per ricostituire i castagneti distrutti dal* « mal dell'inchiostro » : *La coltivazione del Castagno giapponese* « Bollettino R. Staz. Pat. Veg. » VI, 1926, pag. 26 con 8 fig. nel testo.

visita che ho fatto a una piantagione di castagni giapponesi eseguita sul Monte Rosso (Pallanza).



Fig. 2. — Come la fig. 1.

Nella primavera del 1925 feci seminare una certa quantità di castagne (*Tamba*), giunte direttamente dal Giap-

pone, nel Vivaio forestale di Vallombrosa; nel novembre dello stesso anno circa 1000 piantine così ottenute furono inviate alla Cattedra Ambulante di Agricoltura di Pallanza che ne curò il trapianto in apposito vivaio, in attesa che fosse preparato il terreno, cortesemente concesso da quel Comune alla R. Stazione di Patologia vegetale per il periodo di 50 anni. Il terreno concesso, costituito da micascisti e quindi assai permeabile e leggiero, trovasi sul versante sud del Monte Rosso, ad una altitudine sul mare di quasi 600 metri, limitrofo alla strada che, risalendo il monte, da Pallanza conduce a Cavandone. Il terreno, completamente liberato dalle vecchie ceppaie di castagno nostrale e dalla vegetazione spontanea arbustiva ed erbacea, venne sistemato in alcuni punti onde impedire eventuali scoscendimenti e fu protetto contro possibili vandalismi mediante una recinzione di filo di ferro spinoso (1).

L'impianto a dimora di 150 piantine venne eseguito dalla Cattedra Ambulante di Agricoltura di Pallanza nel marzo 1926 distanziando le buche circa 10 metri l'una dall'altra. La R. Stazione di Patologia vegetale ha poi provveduto a fornire i fondi necessari alla manutenzione dell'impianto, ricorrendo per quest'ultimo scopo alla diligente e competente opera direttiva del Prof. G. Silvetti.

Date le particolari condizioni climatiche del Lago Maggiore, le piante presentano oggi, dopo 5 anni dall'impianto, e a 6 anni di età, uno sviluppo veramente soddisfacente. Senza dubbio questo non è eguale a quello che i castagni giapponesi presentano in alcune località della Francia dove a tre anni di età raggiungono già un'altezza dai due ai tre metri. Sul Monte Rosso è al 5° anno

(1) L'estirpazione delle vecchie ceppaie e della vegetazione spontanea, la sistemazione del terreno, il suo cintamento, la concimazione somministrata nelle singole buche, le operazioni del piantamento, costarono complessivamente 15.000 lire che a tale scopo furono concesse dalla Direzione Generale dell'Agricoltura.

d'impianto che alcune delle piante più sviluppate raggiungono 3 metri di altezza, misurando alla base del fusto da 5 a 8 cm. di diametro.



Fig. 3. — Come la fig. 1.

Il limitato accrescimento in altezza è dovuto agli effetti del trapianto che si fanno risentire dapprima con un arresto dell'allungamento della porzione apicale del fusto che molte volte dissecca, mentre le piante acqui-

stano un portamento cespuglioso tendendo a sviluppare i rami bassi a scapito di quelli più alti.



Fig. 4. — Come la fig. 1.

Le fotografie qui riprodotte rappresentano alcuni dei castagni giapponesi del Monte Rosso come si presentavano ai primi di ottobre di quest'anno. Sino dallo scorso

anno fu possibile raccogliere circa 1 Kg. di castagne la maggior parte delle quali non raggiunge ancora le dimensioni normali e sono quindi inadatte alla semina (1). Non si può ancora stabilire con sicurezza di quale varietà si tratti giacchè le castagne vendute dai produttori giapponesi sotto il nome di *Tamba*, non appartengono tutte a una sola varietà, non corrispondendo a questa denominazione una varietà botanicamente ben definita.

Per la squisita cortesia del Dr. Jean Dufrenoy, Direttore della Stazione di Patologia vegetale di Bordeaux, ho potuto portare recentemente in Italia da Versailles i rappresentanti di una preziosa collezione di varietà di *Castanea crenata* e di *C. mollissima* sistematicamente studiate da specialisti nord-americani, e se queste piante, ora affidate alle cure del Direttore della R. Stazione Sperimentale di Selvicoltura di Firenze, Prof. A. Pavari, potranno regolarmente svilupparsi, costituiranno un materiale di sicuro confronto per la determinazione esatta delle varietà di castagno giapponese che in quest'ultimo decennio sono state importate in Italia.

Se gl'impianti istituiti in Liguria, in Piemonte, in Lombardia, in Toscana, nell'Emilia, nel Lazio, in Calabria e in Sicilia, potranno dare fra qualche anno numerose piante come promettono di diventare quelle del Monte Rosso, la produzione di castagne giapponesi nel nostro paese sarà definitivamente assicurata e sarà sufficiente ad alimentare i semenzai necessari alla fornitura di piantine in tutte le località dove si renda indispensabile la ricostituzione del castagneto.

Sarà così raggiunto uno scopo che senza dubbio poteva esser raggiunto alcuni anni fa, ma che le lungaggini e l'inerzia della burocrazia dell'anteguerra ed i limitatis-

(1) Il castagno giapponese incomincia a dare una produzione di un qualche valore pratico all'età di 10-12 anni. 100 piante di questa età possono produrre annualmente circa 600 kg. di castagne.

simi mezzi dei quali allora disponevano gl'Istituti sperimentali agrari e forestali avevano sempre reso di difficile conseguimento.

L. Petri.

Provvedimenti necessari per far fronte alla morìa degli olmi

Il rapido propagarsi in Italia della *morìa degli olmi* (1), rende necessaria ed urgente la ricerca di un mezzo per combattere questa malattia, come pure s'impone la sperimentazione per trovare qualche specie d'olmo resistente con cui sostituire quella più comunemente usata nel nostro paese (*Ulmus campestris* L.). L'urgenza e l'importanza di tali tentativi è da noi sentita assai di più che in Germania e nei Paesi Bassi dove la malattia pure infierisce, ma dove gli olmi servono quasi al solo scopo ornamentale e forestale, mentre in molte nostre regioni è affidata all'olmo la non trascurabile funzione di supporto della vite.

Dopo che in Olanda e in Germania è stata posta in evidenza la parte che alcuni scolitidi (2) hanno nella

(1) Sibilia C., *La morìa degli Olmi in Italia.* « Boll. R. Staz. Pat. veg. » X, 1930, p. 281; Idem, *La morìa degli Olmi prodotta dal « Graphium Ulmi »* Schwarz. Ibidem, pag. 311; Idem, *Una nuova malattia degli Olmi segnalata in Italia.* « L'Alpe », XVIII, n. 8, 1931, pag. 413.

(2) Gli scolitidi che attaccano l' Olmo in Germania ed in Olanda, e che sono stati considerati come i principali vettori del *Graphium Ulmi*, sono: lo *Scolytus scolytus* F. (= *Ecc. Geoffroyi* Goeze) e lo *Scolytus multistriatus* Marsch con la var. *Ulmi* Redtb. A questi si possono aggiungere, come probabili trasmettitori della malattia, lo

trasmissione della malattia, un metodo di lotta razionale contro la *morìa degli olmi* sembrerebbe dovesse esser basato sopra l'impiego di sostanze insettifughe o insetticide.

È noto però come difficilmente si riesca a combattere simili insetti e come sia economicamente poco conveniente l'uso d'insettifughi e insetticidi per proteggere piante di alta statura come gli olmi. Anche l'applicazione delle fumigazioni cianidriche sarebbe assai ostacolata dalle grandi dimensioni delle piante e nel caso di olmi che servono da supporto alle viti, quest'ultime renderebbero non sempre possibile la completa copertura degli alberi con le tende.

È per queste ragioni che da parte degli entomologi l' unico mezzo di lotta consigliato è quello di abbattere le piante molto infestate all'inizio della primavera, di scortecciarle subito e di bruciare sul posto la corteccia, e per quelle che sono poco attaccate, di tagliare e bruciare tutti i rami deperiti e troncati dal vento.

D'altra parte non sarebbe possibile combattere il *Graphium ulmi* con un anticrittogamico. Questo fungo non fruttifica infatti sulla superficie esterna dei rami infetti, ma solo nell'interno delle gallerie che gli scolitidi aprono nei grossi rami o nel fusto delle piante già infette per la deposizione delle uova. È in queste gallerie, aperte fra la corteccia e l'alburno, che vengono ad affiorare le ife del *Graphium* localizzate nel tessuto legnoso, ed è sulla superficie delle gallerie stesse che si formano i conidi del

---

Scolytus laevis Chap., il *Pteleobius vittatus* F. e il *Pteleobius Kraatzi* Eichh.

In Italia sino ad ora non sono state fatte ricerche al riguardo, ma è molto probabile che contribuisca alla diffusione del *Graphium* anche lo *Scolytus sulcifrons* Rey. Per la sinonimia e distribuzione geografica in Italia delle specie suddette si veda Luigioni P., *I coleotteri d'Italia*. « Mem. Pont. Acc. Scienze N. Lincei ». Ser. II, vol. XIII 1929.

fungo. È ben comprensibile che in tali condizioni i giovani scolitidi che fuoriescono dalle gallerie trasportino sul loro corpo un numero più o meno grande di conidi e che in tal modo questi sieno portati sui giovani rami degli olmi e che vengano a contatto del tessuto legnoso in seguito alle erosioni che i giovani scolitidi, per nutrirsi, fanno in corrispondenza delle ascelle dei rametti, o delle foglie. Anche dunque riguardo a questo modo di infezione, la pronta distruzione col fuoco alla fine dell'inverno o all'inizio della primavera delle piante in deperimento o già morte costituisce un'ottima misura profilattica, mentre le irrorazioni delle piante con miscele anticrittogamiche riuscirebbero del tutto inutili, giacchè gli scolitidi, asportando il tessuto corticale, pongono i conidi a contatto del legno che resta allo scoperto per tutta l'estensione della lesione.

Anche sulla terapia interna è da fare per ora il minimo assegnamento, giacchè anche trovando una sostanza diffusibile nella pianta e tossica per il *Graphium*, sarebbe molto difficile poterla far diffondere in tutto il tessuto legnoso di ciascuna pianta col metodo delle iniezioni, ma dovrebbe essere assorbita dalle radici.

È quindi di un interesse molto più pratico la ricerca di una o più specie di olmo resistenti da sostituire gradatamente a quella comunemente coltivata non resistente. È in questa direzione infatti che si sono rivolti principalmente i tentativi dei fitopatologi olandesi e tedeschi ed è pure in questa stessa direzione che dovranno indirizzarsi i nostri per trovare in un tempo relativamente breve la soluzione del grave problema.

La Dr. Chr. Buisman del Laboratorio fitopatologico di Baarn (Olanda) in una recentissima pubblicazione (1)

---

(1) Buisman Chr., *Übersicht über die Ulmenarten in Bezug auf den Kampf gegen die Ulmenkrankheit.* « Angewandte Bot. » XIII, Heft. 5, 1931, pag. 459.

passa in rassegna tutte le specie di *Ulmus* in rapporto ai mezzi per difendersi dai danni prodotti dal *Graphium ulmi*.

Delle sei specie di olmo che si conoscono in America, l'*U. americana* L., *U. fulva* Mich., *U. alata* Mich. e *U. serotina* Sarg. sono risultate non resistenti, dell'*U. crassifolia* e dell'*U. racemosa* Thomas non si conosce ancora il grado di resistenza contro il *Graphium*, ma è da notare che l'ultima specie suddetta difficilmente potrà esser coltivata nel nostro clima per la sua grande sensibilità ai freddi precoci e tardivi. Cosicchè dunque su le specie americane non c'è da fare quasi alcun assegnamento.

Fra le specie asiatiche, presentano il più grande interesse l'*U. pumila* e la sua varietà *pinnato-ramosa* dell'Asia orientale. Importata nell'America del nord sino dal 1908, questa specie ha dato sino ad ora ottimi risultati per ciò che riguarda l'adattabilità al clima e ai più diversi terreni anche quelli meno favorevoli alla coltura di qualsiasi altro albero. È pianta di rapido accrescimento per quanto non raggiunga grandi dimensioni. Il legno è però fragile, ma le foglie piccole offrono poca presa al vento.

Sino ad ora l'*U. pumila* si è dimostrata resistentissima contro il *Graphium* tanto in Olanda che in Germania (1).

Per quanto non si possa ancora parlare d'immunità assoluta, è certo che la resistenza di questa specie asiatica è elevatissima. Attualmente in Olanda si sta moltiplicando l'*U. pumila* mediante l'innesto sull'olmo olandese.

L'*U. japonica*, che è assai simile all'*U. hollandica*, e l'*U. Wilsoniana* sono risultate per ora resistenti. L'*U.*

---

(1) Io stesso ho potuto constatare, per cortese concessione del prof. Wollenweber, nello scorso settembre, i risultati negativi delle inoculazioni di *Graphium* eseguite sui rami di *U. pumila* nel vivaio sperimentale di varie specie di olmi appositamente impiantato presso il Biologische Reichsanstalt di Berlino (Dahlem).

parvifolia Jacq., l'*U. Davidiana* Pl., l'*U. Bergmanniana* Sch., l'*U. macrocarpa* Han. e l'*U. laciniata* Mayr sono ancora in esperimento.

Delle specie europee, nessuna è risultata immune. Solo le varietà *Dampieri* dell'*U. foliacea* Gil. (=*U. campestris* L.) è risultata assai meno recettiva. Dell'*U. hollandica* (ibrido fra *U. glabra* Huds. e *U. foliacea* Gil.), le singole varietà presentano un grado diverso di recettività. Così l'*U. hollandica belgica* è più gravemente attaccata dell'*U. hollandica vegeta*. Anche l'*U. laevis* Pall. (=*U. effusa* Willden.) è risultata molto recettiva per il *Graphium*.

L'*U. minor* Mill. e l'*U. procera* Salisb. non sono state ancora sperimentate, ma è molto probabile che queste specie non sieno affatto resistenti.

Le ricerche future potranno anche esser rivolte alla produzione di ibridi e alla selezione di razze resistenti, ma simili tentativi sono oltremodo ostacolati dal fatto che molte specie di olmo si riproducono difficilmente per seme.

Sarebbe intanto sommamente utile che anche in Italia si sottoponessero a ripetute prove d'infezione col *Graphium ulmi* l'*U. pumila* e le sue varietà, nonchè l'*U. japonica*, l'*U. Wilsoniana* e le altre specie asiatiche che probabilmente sono tutte resistenti.

Può darsi che alcuni rappresentanti di queste specie si trovino in qualche nostro Orto botanico. Nell'elenco delle piante coltivate negli Arboreti di Vallombrosa, pubblicato nel 1917 dal Prof. L. Piccioli (1), si trovano ci-

---

(1) Piccioli L., *Gli arboreti sperimentali di Vallombrosa*. Firenze, M. Ricci, 1917.

Le specie elencate sono le seguenti: n. 320. *Ulmus americana* L.; n. 321, *U. campestris* L. e sotto quest'ultima specie sono indicate: *U. campestris* var. *umbraculifera* Späth., *U. chinensis* Desf., *U. elliptica* C. Koch, *U. hollandica* Mill., *U. modiolina* Dum., *U. suberosa* Moench., *U. viminalis* Lodd., *U. viminalis* var. *gracilis* Späth.;

tate alcune specie di cui converrebbe sperimentare la resistenza. Ma oltre a questi pochi esemplari, la cui determinazione sistematica andrebbe riveduta, sarebbe necessario che un più abbondante e vario materiale da sottoporsi alle prove anzidette fosse procurato direttamente dai paesi di origine (specialmente dall'Asia) dalla R. Stazione Sperimentale Forestale di Firenze che, con la collaborazione della R. Stazione di Patologia vegetale, potrebbe nello spazio di pochi anni, fornire ai nostri vivaisti un numero sufficiente di piante-madri per la moltiplicazione della specie o della varietà che fosse risultata di sicura resistenza contro il *Graphium ulmi*.

Questo programma di lavoro dovrebbe essere attuato al più presto possibile, perchè la malattia si diffonde minacciosamente dal nord verso il sud, rendendo necessaria fra poco tempo la sostituzione dell'*Ulmus campestris* con altra specie esotica immune.

L. Petri.

---

n. 322, *Ulmus fulva* Michx.; n. 323, *Ulmus montana* Willd., id. var. *flavescens* Hort., id. var. *hollandica* Späth., id. *macrophylla*, id. var. *pyramidalis*, id. id. forma *plumosa* Hort., *U. corylifolia* Bor. var. *purpurea* K. Koch, *U. scabra* Mill. var. *pendula* Hort.; n. 324, *Ulmus pedunculata* Fouger. (= *U. effusa* Willd.); n. 325, *Ulmus racemosa* Thomas.

NOTIZIE VARIE

II Congresso internazionale di Patologia comparata.

A Parigi, dal 14 al 18 ottobre scorso si è riunito il II Congresso internazionale di Patologia comparata con una larga partecipazione di delegati di quasi tutti gli Stati del mondo. Anche la Fitopatologia vi era rappresentata per quanto non così largamente come la Patologia umana.

Come era già stato comunicato in precedenza i temi di Patologia vegetale principalmente discussi furono due: Le malattie da carenza e le malattie prodotte da *virus*. Le relazioni presentate sul primo tema furono le seguenti:

WESTERDIJK (Utrecht), *Carenze nelle piante.*

H. B. HUMPHRAY (Washington), *Relazione sopra le ricerche americane relative alle malattie delle piante dovute a carenze minerali.*

HOAGLAND (California), *L'accrescimento delle piante e le malattie da carenza.*

KUNDSON D'HOPKINS (Ithaca), *Carenza del ferro.*

ALLISON e WEDHWORTH (Florida), *Carenza dello zinco.*

GUITTONEAU (Parigi), *Carenza del susino.*

SIDERIS e KRAUSS, *Carenze minerali delle piante: il significato fisiologico del ferro, del titanio, del manganese, del boro e del fluoro sopra lo sviluppo dell'* Ananas sativus *e della* Zea Mays.

SIBILIA (Italia), *Effetti della carenza di cloro sul fagiolo.*

Le relazioni presentate sopra le malattie da *virus* furono assai più numerose:

QUANJER (Wageningen), *Le malattie da virus delle piante.*

SCHAFFNIT (Germania), *Malattie da virus.*

VON BREHMER (Germania), *Sopra il virus delle malattie di differenti colture di piante.*

IDEM, *Patologia comparata e lotta biologica nel caso di malattie da virus in generale.*

REDDICH (Ithaca), *La trasmissione del virus del mosaico del fagiuolo per mezzo del polline.*

HUNKEL (New-York), *Malattie da virus.*

KLEBAHN (Germania), *Malattie da virus.*

RIVERS (Fondazione Rockfeller), *Malattie da virus.*

CALDWELL (Harpenden), *La fisiologia delle malattie da virus delle piante.*

SHEFFIELD (Harpenden), *Le inclusioni intracellulari nelle malattie da virus delle piante.*

VON EULER (Stockholm), *Ricerche chimiche sopra l'azione di due virus dei vegetali.*

COOK (Porto Rico), *Azione inibitrice delle malattie da virus sopra le cellule.*

STOREY (Annaurai, Tanganyaka), *Trasmissione delle malattie da virus ad opera degl' insetti.*

BEAUVERIE (Francia), *Le malattie da virus.*

PETRI (Italia), *Sopra un metodo per eseguire le iniezioni di virus nelle foglie.*

SALAMAN (Inghilterra), *Malattie da virus della patata.*

MURPHY (Dublino), *Malattie da virus della patata.*

BLODGETT (Stati Uniti A.), *Malattie da virus della patata.*

HANDERSON SMITH (Inghilterra), *Malattie da virus della patata.*

HURST (Inghilterra), *Citologia delle piante di patata affètte da malattie da virus.*

KENNET SMITH (Inghilterra), 1.° *Malattie da virus della patata.* 2.° *La natura complessa dei virus del mosaico della patata, loro analisi per mezzo delle piante indicatrici e dei metodi selettivi di trasmissione.*

MURPHY e CLICH (Irlanda), *Malattie da virus della patata.*

MAC KINNEY (Stati Uniti A.), *Malattie da virus del tabacco e del grano.*

THUNG (Giava), *Eziologia delle malattie da virus del tabacco.*

GHIMPER (Bucarest), *Le malattie da virus del tabacco osservate in Romania.*

BRANDES (Stati Uniti A.), *Malattie da virus della canna da zucchero.*

HUTCHIUS (Stati Uniti A.), *Malattie da virus del pesco.*

WHITE (Inghilterra), *Mosaico delle piante di rosa.*

BAUDYS (Cecoslovacchia), *Malattie da virus dei pelargoni.*

DUFRENOY (Francia), *Citologia delle cellule delle piante*

affètte da malattie da virus e delle piante sofferenti per carenze minerali.

Brevi comunicazioni furono fatte dal Prof. Petri sopra malattie da virus osservate in Italia sulla vite e sul pesco.

Oltre ai due temi suddetti vennero comunicati rapporti anche sopra i seguenti argomenti:

CARBONE (Milano), *La vaccinazione delle piante.*

FRANCHINI (Modena), *I flagellati delle piante latticifere.*

BEATTY (Washington), *Malattie dei castagni orientali.*

NICOLAS (Tolosa), *Osservazioni sopra le malattie batteriche dei vegetali.*



Prof. LIONELLO PETRI, *Direttore responsabile*